

**ENI S.p.A. - DIVISIONE E&P**

**SERVIZI DI MONITORAGGIO AMBIENTALE  
CAMPO TEA**

**V ANNO DI MONITORAGGIO**

**2010**

**III anno dopo la posa in opera della piattaforma**

**RAPPORTO SEMESTRALE**

**OPERATORE SCIENTIFICO:**

**CNR – ISMAR SEDE DI ANCONA**

**RESPONSABILE SCIENTIFICO:**

**GIANNA FABI**

**RAPPORTO A CURA DI:**

**GIANNA FABI**

**LUCA BOLOGNINI**

**ANNA MARIA DE BIASI**

**ALESSIO GOMIERO**

**LUDMILA KOZINKOVA**

**PIER LUIGI PENNA**

**ALESSANDRA SPAGNOLO**

**ANCONA, 2015**



# INDICE

<b>1. INTRODUZIONE</b> .....	1
<b>2. MATERIALI E METODI</b> .....	3
2.1. CAMPIONAMENTO IN MARE .....	3
2.1.1. INDAGINI IDROLOGICHE .....	3
2.1.2. INDAGINI FISICHE E CHIMICHE DEI SEDIMENTI E SULLA COMUNITÀ BENTONICA .....	5
2.1.3. ECOTOSSICOLOGIA DEI SEDIMENTI .....	8
2.1.4. ANALISI DI INQUINANTI IN <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> .....	8
2.1.5. INDAGINI SULLA COMUNITÀ ITTICA .....	9
2.2. ANALISI DI LABORATORIO E ANALISI DEI DATI .....	10
2.2.1. INDAGINI IDROLOGICHE .....	10
2.2.2. INDAGINI FISICHE E CHIMICHE DEI SEDIMENTI .....	11
2.2.3. ECOTOSSICOLOGIA DEI SEDIMENTI .....	13
2.2.3.1 <i>Corophium orientale</i> .....	13
2.2.3.2 <i>Paracentrotus lividus</i> .....	15
2.2.3.3 <i>Hediste diversicolor</i> .....	17
2.2.4. ANALISI DI INQUINANTI IN <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> .....	18
2.2.4.1 Biomarkers .....	18
2.2.4.2 Idrocarburi Alifatici e Idrocarburi Policiclici aromatici .....	31
2.2.4.3 Metalli pesanti .....	36
2.2.5. INDAGINI SULLA COMUNITÀ BENTONICA .....	41
2.2.6. INDAGINI SULLA COMUNITÀ ITTICA .....	43
<b>3. RISULTATI</b> .....	45
3.1. INDAGINI IDROLOGICHE .....	45
3.1.1. TEMPERATURA, SALINITÀ, TORBIDITÀ E OSSIGENO DISCIOLTO .....	45
3.1.2. FLUORESCENZA .....	49
3.1.3. SALI NUTRITIVI .....	50
3.1.4. CLOROFILLE A,B,C .....	55
3.1.5. MISURE CORRENTOMETRICHE .....	59
3.2. INDAGINI FISICHE E CHIMICHE DEI SEDIMENTI .....	62
3.2.1. GRANULOMETRIA .....	62
3.2.2. IPA .....	63
3.2.3. METALLI PESANTI .....	65
3.2.4. SOSTANZA ORGANICA .....	70
3.3. ECOTOSSICOLOGIA DEI SEDIMENTI .....	71
3.3.1. <i>COROPHIUM ORIENTALE</i> .....	71
3.3.2. <i>PARACENTROTUS LIVIDUS</i> .....	72
3.3.3. <i>HEDISTE DIVERSICOLOR</i> .....	77
3.4. RICERCA DI INQUINANTI IN <i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> .....	79
3.4.1. BIOMARKERS .....	79
3.4.2. MATERIA ORGANICA ESTRATTA, BIOACCUMULO DI IDROCARBURI ALIFATICI, IDROCARBURI POLICICLICI	

	AROMATICI E METALLI PESANTI .....	88
3.5.	INDAGINI SULLA COMUNITÀ BENTONICA .....	95
3.5.1.	DENSITÀ .....	95
3.5.2.	AFFINITÀ BIOCENOTICHE DELLE SPECIE RINVENUTE .....	99
3.5.3.	DOMINANZA .....	100
3.5.4.	RICCHEZZA SPECIFICA TOTALE .....	101
3.5.5.	RICCHEZZA SPECIFICA MEDIA .....	103
3.5.6.	DIVERSITÀ SPECIFICA .....	103
3.5.7.	MULTIDIMENSIONAL SCALING .....	104
3.5.8.	VALUTAZIONE DELLO STATO DI STRESS DELLE COMUNITÀ .....	106
3.5.9.	<i>MYTILUS GALLOPROVINCIALIS</i> .....	107
3.6.	INDAGINI SULLA COMUNITÀ ITTICA.....	108
3.6.1.	RICCHEZZA SPECIFICA E DIVERSITÀ SPECIFICA.....	108
3.6.2.	RENDIMENTI DI PESCA E COMPOSIZIONE DELLE CATTURE.....	114
3.6.3.	AFFINITÀ DELLE SPECIE CATTURATE CON I SUBSTRATI DURI .....	117
3.7.	AVVISTAMENTI DI CETACEI E TARTARUGHE MARINE .....	120
4.	CONCLUSIONI .....	121
5.	BIBLIOGRAFIA.....	130
<b>ALLEGATO A</b>	Schede tecniche della strumentazione utilizzata nelle indagini .....	I
	- ALL. A1 Indagini idrologiche .....	II
	- ALL. A2 Indagini fisiche e chimiche dei sedimenti .....	V
	- ALL. A3 Indagini sulla comunità bentonica.....	X
	- ALL. A4 Indagini sulla comunità ittica .....	XIII
	- ALL. A5 Ricerca di inquinanti in <i>Mytilus galloprovincialis</i> .....	XIV
<b>ALLEGATO B</b>	Schede granulometriche (inverno 2010) .....	XXII



## 1. INTRODUZIONE

In riferimento al DEC/DSA/2004/00149 del 02/03/2004 il CNR-ISMAR Sede di Ancona è stato incaricato dall'ENI S.p.A. – Divisione E&P di effettuare un monitoraggio volto a valutare il potenziale impatto ambientale conseguente l'installazione della piattaforma Tea e della condotta sottomarina interrata collegante le piattaforme Tea – Amelia B.

La piattaforma Tea è stata installata a circa 58 km al largo di Ravenna e a circa 42 m di profondità, zona caratterizzata dalla presenza delle sabbie del largo che occupano la porzione centrale dell'Adriatico. Il sea-line di collegamento tra le piattaforme Tea e Amelia B si estende per circa 30 km in direzione ENE-WSW attraversando tutte le fasce sedimentologiche intermedie fino ad arrivare nella zona dei Fanghi Terrigeni Costieri in cui è ubicata Amelia B. L'area è fortemente soggetta agli apporti del fiume Po ed è caratterizzata da correnti variabili influenzate da fenomeni sia meteorologici che idrodinamici. Di conseguenza, le caratteristiche abiotiche e biotiche sono da ritenersi differenti da quelle osservate sia presso le altre piattaforme più costiere monitorate nello stesso areale (Naomi-Pandora, Naide e PCMS-1), sia presso piattaforme del largo oggetto di analoghe indagini situate più a Sud e a batimetriche maggiori (Barbara NW, Calpurnia, Clara Est, Clara Nord, Calipso). Pertanto, sulla base di tali considerazioni, si è ritenuto necessario proporre un monitoraggio della durata di tre anni a partire dalla posa in opera delle strutture e comprendente le seguenti indagini:

1. caratteristiche idrologiche della colonna d'acqua (correnti, indagini chimiche e fisiche) nell'area interessata dalla piattaforma;
2. caratteristiche chimiche e fisiche dei sedimenti circostanti la piattaforma e il sea-line;
3. ecotossicologia dei sedimenti circostanti la piattaforma e il sea-line;
4. caratteristiche delle comunità bentoniche presenti nei sedimenti circostanti entrambe le strutture;
5. analisi di inquinanti in esemplari di *Mytilus galloprovincialis* (metalli pesanti, idrocarburi alifatici, idrocarburi policiclici aromatici, biomarkers) insediati sulle parti immerse della piattaforma;
6. evoluzione del popolamento ittico nell'area circostante la piattaforma;
7. rilevamento del passaggio di cetacei e tartarughe marine nei pressi della piattaforma e del sea-line.

Per ottenere un quadro esaustivo degli effetti indotti dall'installazione della piattaforma e

del sea-line, nell'estate 2006 è stato condotto un survey antecedente la loro posa in opera ("pre-survey") riguardante gli aspetti descritti nei punti 1-4 e 7 del precedente elenco (ad eccezione delle correnti; Fabi *et al.*, 2006a).

Nell'inverno 2007 sarebbe dovuto iniziare il monitoraggio triennale successivo alla posa in opera delle strutture. Per quanto concerne Tea, si sono verificati alcuni ritardi nell'installazione della piattaforma che nel novembre 2007 non era ancora conclusa. Infatti, in tale periodo nell'area erano presenti il jacket e un jack-up, oltre ad alcune imbarcazioni di appoggio (fig. 1.1). Ciò ha determinato l'impossibilità di adottare il piano di campionamento previsto nella Specifica Tecnica per le indagini sedimentologiche e sulla comunità bentonica. Pertanto, sia nell'inverno che nell'estate 2007 sono stati indagati gli aspetti descritti nei punti 1-4 e 7 dell'elenco sopra riportato seguendo lo stesso schema di monitoraggio adottato nel pre-survey condotto precedentemente (Fabi *et al.*, 2006a). L'installazione e perforazione dei pozzi si sono concluse a fine 2007; quindi, nell'inverno 2008 è stato possibile effettuare il primo survey post-lavori comprendente tutte le indagini previste.

Per quanto concerne il sea-line, nel 2009 si è concluso il monitoraggio previsto nei tre anni successivi alla sua installazione i cui risultati sono riportati in Fabi *et al.* (2015). Pertanto, nella presente relazione sono riportati i dati relativi alla sola piattaforma Tea ottenuti nel corso del I semestre 2010 (III anno dopo la posa in opera), brevemente confrontati con quelli relativi al periodo di indagine precedente.



**Fig. 1.1** - Settembre 2007. Jacket della piattaforma Tea e jack-up per i lavori di installazione e perforazione.

## 2. MATERIALI E METODI

Come già accennato nel Cap. 1, la piattaforma Tea è ubicata a circa 58 km al largo di Ravenna a una profondità di circa 42 m (fig. 2.1). Le coordinate relative alla struttura sono riportate in Tab. 2-I.

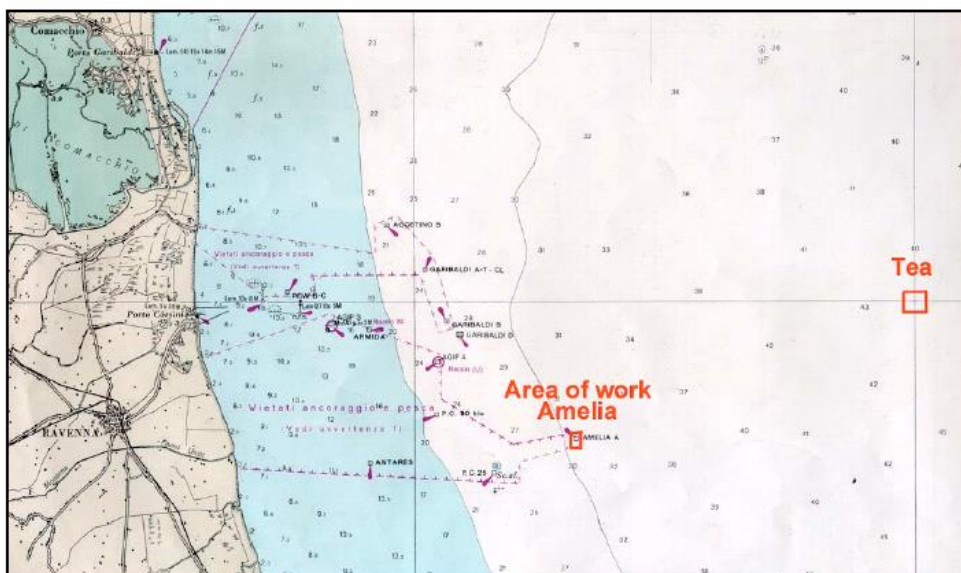


Fig. 2.1 – Ubicazione della piattaforma Tea.

Tab. 2-I – Coordinate geografiche della piattaforma Tea.

Sito	Coordinate Geografiche
Piattaforma TEA	44 30 469N 13 01 184E

### 2.1. CAMPIONAMENTO IN MARE

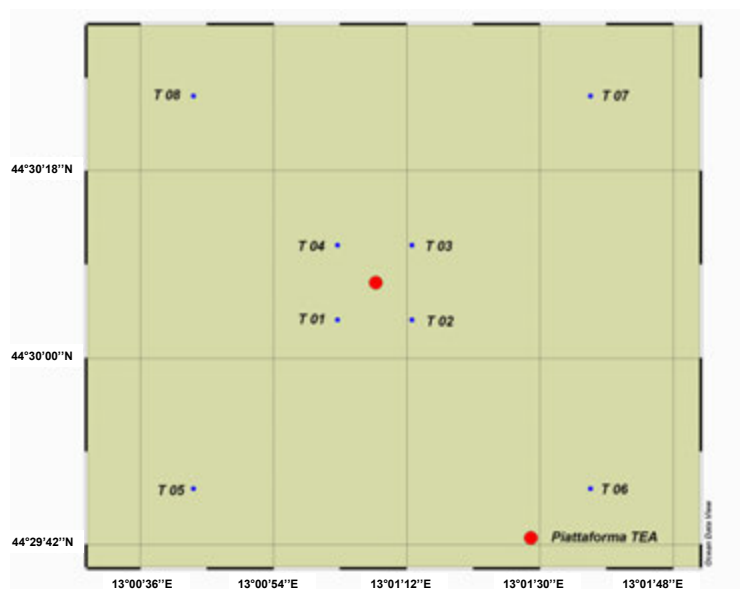
#### 2.1.1. INDAGINI IDROLOGICHE

Nel corso del primo semestre del 2010 sono state effettuate tre campagne di misura dell'area al fine di monitorare le condizioni ambientali della zona d'installazione della piattaforma. Le campagne sono state effettuate nei mesi di febbraio, aprile e giugno 2010 a bordo della N/O G. Dallaporta.

A tale scopo sono stati tracciati due transetti attorno alla piattaforma Tea (fig. 2.2), rispettivamente in direzione SW-NE e SE-NW. Lungo tali transetti sono stati posizionati



quattro siti di prelievo a circa 100 m dalla piattaforma denominati T01 (posto a SW della piattaforma), T02 (SE), T03 (NE) e T04 (NW), e quattro siti a una distanza di 1 km dalla stessa, corrispondenti a quelli monitorati nel pre-survey, denominati T05 (posto a SW), T06 (SE), T07 (NE) e T08 (NW; Tab. 2-II).



**Fig. 2.2** - Schema dei transesti utilizzati per le indagini idrologiche condotte durante i lavori di posa in opera della piattaforma Tea con le relative stazioni di campionamento.

Presso tutti i siti sono stati registrati i valori di temperatura, salinità, fluorescenza e torbidità (misura del materiale sospeso) lungo tutta la colonna d’acqua utilizzando una sonda multiparametrica CTD (Conductivity-Temperature-Depth) della Sea Bird modello SBE911plus equipaggiata, oltre che con i sensori standard di temperatura e conducibilità e pompa in duplice coppia, con un fluorimetro e torbidimetro Turner - SCUFA per la misurazione della concentrazione di clorofilla *a* e del particolato sospeso (TSM: Total Suspended Matter), un sensore di ossigeno SBE43 per la misurazione della concentrazione di ossigeno disciolto ed un altimetro della Datasonics per la misurazione della profondità (All. A1-I). La sonda era accoppiata ad una “rosette” della General Oceanics da 12 bottiglie Niskin della capacità di 10 lt. Le sonde sono state periodicamente calibrate presso il centro di calibrazione del SACLANT della NATO di La Spezia.

I campioni d’acqua per le analisi chimiche dei sali nutritivi, dell’ossigeno disciolto, dei pigmenti clorofilliani sono stati prelevati tramite le bottiglie Niskin in corrispondenza della quota superficiale, a -10 m, -20 m e in prossimità del fondo.

**Tab. 2-II** - Dati identificativi dei siti di campionamento utilizzate per le indagini idrologiche.

	Distanza da Tea (m)	Posizione rispetto a Tea	Coordinate geografiche	Profondità (m)
T01	100	SW	44°30'04''N 13°01'01''E	42
T02	100	SE	44°30'04''N 13°01'12''E	42
T03	100	NE	44°30'11''N 13°01'12''E	42
T04	100	NW	44°30'11''N 13°01'01''E	42
T05	1000	SW	44°29'46''N 13°00'43''E	42
T06	1000	SE	44°29'46''N 13°01'37''E	42
T07	1000	NE	44°30'25''N 13°01'37''E	42
T08	1000	NW	44°30'25''N 13°00'43''E	42

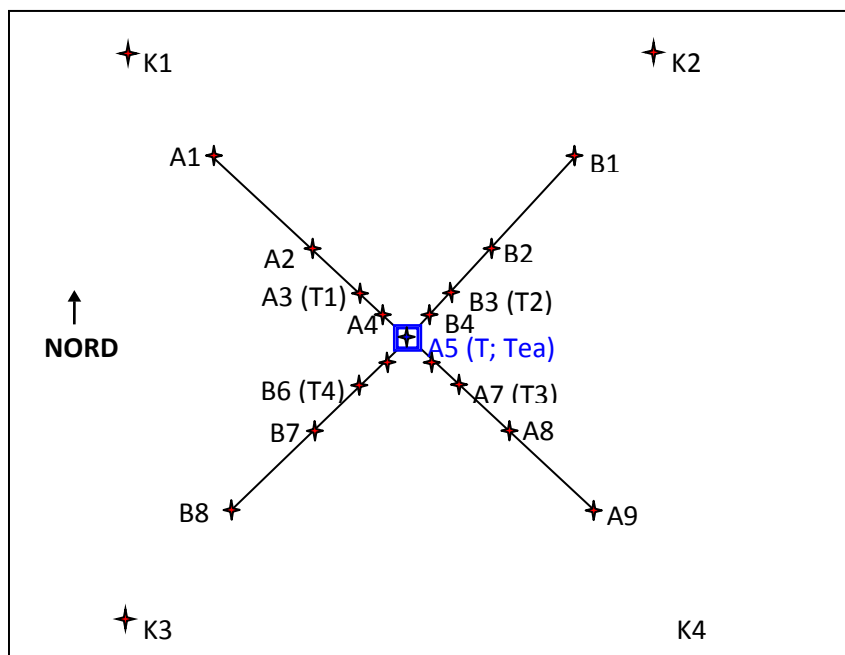
Per quanto concerne le indagini correntometriche, a partire dal 13/01/2010 è stata posta, in corrispondenza della piattaforma TEA, una catena correntometrica composta da una gabbia in acciaio contenente un correntometro ADCP (Acoustic Doppler Current Profiler; All. A1-II) e da uno sganciatore acustico posto sotto la gabbia. Il correntometro ADCP è un profilatore ad effetto doppler che effettua misure tridimensionali della velocità a numerosi livelli (celle) nella colonna d'acqua. Utilizza 4 trasduttori e per questo è in grado di fornire anche un'indicazione della qualità del dato. Inoltre, fornisce una serie di dati che si potrebbero definire "accessori", ma che rivestono essi stessi un interesse estremo. Ad esempio, l'intensità del segnale riflesso ha una stretta relazione con il contenuto di particelle nell'acqua in ognuna delle celle e, quindi, fornisce indicazioni ben precise sulla stratificazione della colonna d'acqua. Le misure correntometriche presentate in questo rapporto semestrale sono quindi registrate dall'ADCP e riguardano la cella di fondo e quella di superficie, considerate maggiormente rappresentative. Sono stati così registrati, ad intervalli di 30", valori di direzione e intensità delle correnti e di temperatura sul fondo.

### **2.1.2. INDAGINI FISICHE E CHIMICHE DEI SEDIMENTI E SULLA COMUNITÀ BENTONICA**

Analogamente agli anni precedenti (Fabi *et al.*, 2015), anche nel 2010 all'interno dell'area occupata dalla piattaforma sono state posizionate 17 stazioni (fig. 2.3) lungo due transetti ortogonali tra di essi e aventi come punto di intersezione il sito della piattaforma stessa (A5). Il primo transetto (denominato A) è stato orientato da NW verso SE, mentre il secondo (B) è stato disposto in direzione NE-SW, ortogonalmente alla linea di costa.

Sono state inoltre campionate quattro stazioni di controllo (K1, K2, K3 e K4) già utilizzate nei survey precedenti, poste a circa 0,5 mn da Tea rispettivamente in direzione NW, NE, SE e SW. Le distanze delle singole stazioni dalla piattaforma e le profondità relative sono

riportate in Tab. 2-III.

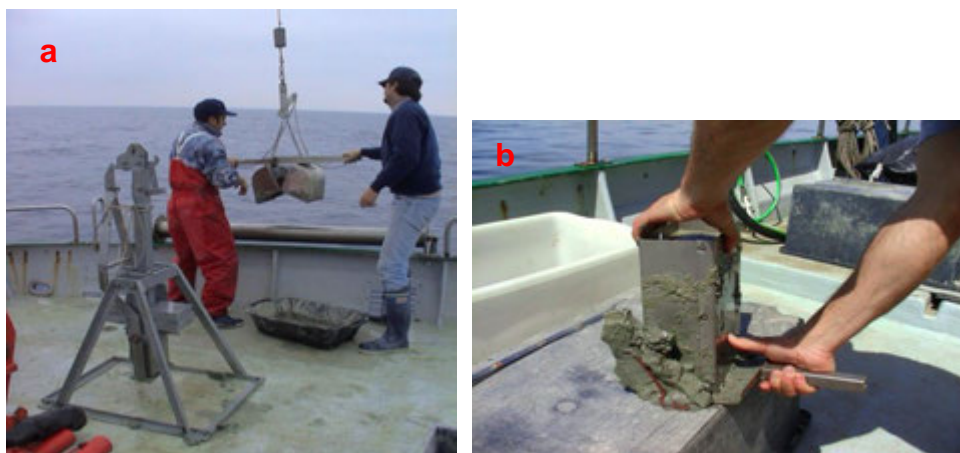


**Fig. 2.4** - Schema dei transetti con le relative stazioni di campionamento e siti di controllo K1, K2, K3 e K4 utilizzati dopo l'installazione della piattaforma Tea. Tra parentesi sono riportati i nomi delle corrispondenti stazioni monitorate nel pre-survey e nei campionamenti effettuati durante i lavori di installazione e perforazione dei pozzi (non in scala).

**Tab. 2-III** - Dati identificativi delle stazioni di campionamento utilizzate nell'inverno 2010 per le indagini sedimentologiche e sulla comunità bentonica. In rosso il sito della piattaforma.

	DISTANZA DA TEA (m)	COORDINATE GEOGRAFICHE		PROFONDITÀ (m)
A1	250	44°30'11",94N	13°01'00",12E	40,6
A2	120	44°30'09",12N	13°01'02",46E	40,6
A3	60	44°30'07",68N	13°01'04",50E	40,6
A4	30	44°30'06",96N	13°01'05",58E	40,5
<b>A5</b>	<b>0</b>	<b>44°30'05",22N</b>	<b>13°01'09",24E</b>	<b>40,5</b>
A6	30	44°30'04",92N	13°01'10",02E	40,5
A7	60	44°30'03",84N	13°01'11",40E	40,5
A8	120	44°30'03",24N	13°01'12",48E	40,7
A9	250	44°29'59",58N	13°01'17",22E	40,7
B1	250	44°30'13",62N	13°01'09",36E	40,5
B2	120	44°30'10",08N	13°01'09",30E	40,6
B3	60	44°30'08",28N	13°01'08",94E	40,6
B4	30	44°30'07",08N	13°01'08",94E	39,9
<b>A5</b>	<b>0</b>	<b>44°30'05",22N</b>	<b>13°01'09",24E</b>	<b>40,5</b>
B5	30	44°30'03",96N	13°01'05",88E	40,6
B6	60	44°30'03",36N	13°01'04",26E	40,8
B7	120	44°30'02",64N	13°01'02",16E	40,6
B8	250	44°29'59",88N	13°00'58",14E	40,8
K1	1000	44°30'18",06N	13°00'31",80E	40,8
K2	1000	44°30'29",16N	13°01'40",80E	40,4
K3	1000	44°29'39",90N	13°00'28",08E	40,4
K4	1000	44°29'41",76N	13°01'37",74E	40,1

**Indagini fisiche e chimiche dei sedimenti** - Tutte le stazioni sono state campionate mediante box-corer (fig. 2.5a e 2.5b; All. A2-I).



**Fig. 2.5** – a) Box-corer utilizzato per le indagini fisiche e chimiche dei sedimenti (in primo piano) e recupero della benna Van Veen utilizzata per lo studio della comunità bentonica. b) apertura della scatola del box-corer per il recupero del campione di sedimento.

Dal campione, dopo la descrizione degli aspetti macroscopici, è stata prelevata la porzione superficiale (0-2 cm). L'ulteriore campione così ottenuto è stato successivamente omogeneizzato e suddiviso in 3 aliquote per le seguenti analisi:

- analisi granulometriche;
- metalli in tracce;
- sostanze organiche.

I campioni sono stati congelati e conservati a  $-18^{\circ}\text{C}$  ad eccezione di quelli utilizzati per la granulometria, conservati a  $+4^{\circ}\text{C}$ .

**Indagini sulla comunità bentonica** - Tutte le stazioni sono state campionate mediante una benna di tipo Van Veen avente una capacità di 12 l e un'apertura di  $0,095\text{ m}^2$  (fig. 2.5a; All. A3-I). Presso ogni stazione sono state effettuate 6 repliche. I campioni sono stati lavati e setacciati con maglia da 0,5 mm (fig. 2.6; All. A3-II) e fissati in formalina diluita in acqua di mare al 5%.

Inoltre, dalle parti sommerse della piattaforma è stato prelevato un campione di mitili presente su una superficie di  $40\times 40\text{ cm}$  a circa 5 m di profondità, subito pesato e congelato a bordo per le successive analisi biometriche.



**Fig. 2.6** - Campione di macrozoobenthos sul setaccio durante la fase di pulitura dai residui di sedimento.

### 2.1.3. ECOTOSSICOLOGIA DEI SEDIMENTI

Contemporaneamente ai prelievi per le indagini sedimentologiche e sulla comunità bentonica, presso le stazioni A5, A7, A9, B6, B8, K1 e K4 sono stati prelevati mediante box-corer anche campioni di sedimento per lo svolgimento dei seguenti saggi biologici:

- *Corophium orientale* (fig. 2.7a; mortalità dopo 28 gg);
- *Hediste diversicolor* (fig. 2.7b; prove di bioaccumulo per Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, V e Zn);
- *Paracentrotus lividus* (fig. 2.7c; fecondazione e sviluppo).

Dal campione di sedimento è stata prelevata solo la porzione superficiale (5-10 cm) eliminando lo strato di fango venuto a contatto con le pareti del box-corer, al fine di evitare eventuali contaminazioni. Il materiale così ottenuto è stato posto in recipienti puliti e conservato a circa 5°C.



**Fig. 2.7** – Esempari di: a) *Corophium orientale*; b) *Hediste diversicolor*; c) *Paracentrotus lividus*.

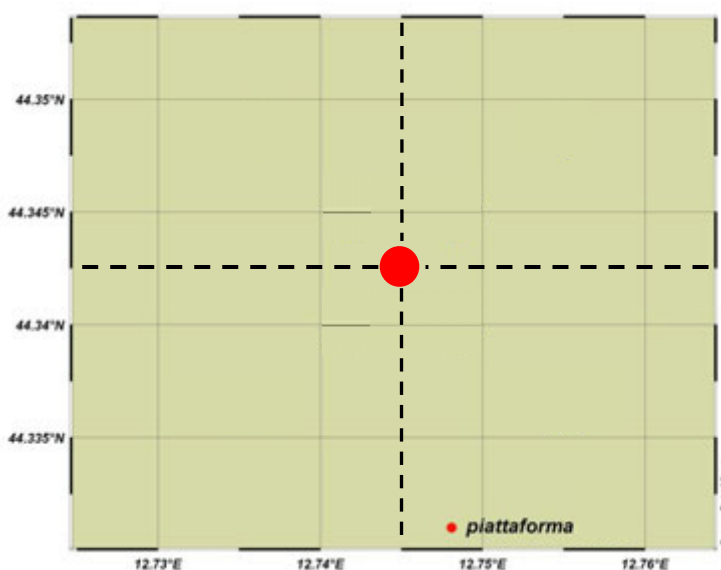
### 2.1.4. ANALISI DI INQUINANTI IN *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

Contemporaneamente ai campioni dei sedimenti e della comunità bentonica effettuati nella fase di produzione della piattaforma sono stati raccolti campioni di mitili insediati sulle parti sommerse della piattaforma, a circa 5 m di profondità, uno vicino e uno lontano dagli

anodi di sacrificio. Nello stesso periodo è stato prelevato alla stessa quota un campione di mitili presso un impianto di miticoltura a Cesenatico (FO), non influenzato da evidenti fonti di inquinamento, da considerare come controllo.

### 2.1.5. INDAGINI SULLA COMUNITÀ ITTICA

I campionamenti della fauna ittica sono stati effettuati a partire dalla fase di produzione della piattaforma sia nei pressi della struttura (entro un raggio di 50 m dalla struttura) sia in due aree di controllo prive di substrati duri naturali o artificiali, situate sulla stessa batimetria della struttura e a una distanza di circa 1 mn, in modo da non essere influenzate dalla sua presenza. Queste zone sono state utilizzate per ottenere informazioni qualitative e quantitative riguardo il popolamento ittico dell'habitat naturale. Ad ogni campionamento i due controlli venivano posizionati in modo casuale all'interno dei quattro quadranti (NW, NE, SE e SW) intorno alla piattaforma (fig. 2.8).



**Fig. 2.8** - Disposizione dei quadranti intorno alla piattaforma Tea entro i quali ad ogni campionamento venivano posizionati i due controlli.

La scelta casuale dei quadranti entro cui posizionare i due controlli durante ogni survey di pesca, si è resa necessaria al fine di evitare un errore sistematico nel posizionamento delle aree di riferimento in due punti fissi.

Per i campionamenti è stata utilizzata una rete da posta tipo “tremaglio” avente le seguenti caratteristiche: lunghezza totale 300 m; altezza 3 m; pannello interno in monofilamento di poliammide con maglie di 72 mm di apertura; pannelli esterni in monofilamento di poliammide con maglie di 400 mm di apertura (All. A4).

La rete veniva calata al tramonto e salpata all'alba del giorno seguente, per circa 12 h di permanenza in mare. Le pescate sono state effettuate con frequenza mensile e contemporaneamente nei tre siti, al fine di operare nelle medesime condizioni meteorologiche. Nel periodo gennaio – giugno 2010 sono stati effettuati 6 campionamenti della fauna vagile sia nei pressi della piattaforma che nei siti di controllo.

## **2.2. ANALISI DI LABORATORIO E ANALISI DEI DATI**

### **2.2.1. INDAGINI IDROLOGICHE**

I campioni d'acqua raccolti presso tutte le stazioni sono stati analizzati in laboratorio per valutare il contenuto dei sali nutritivi disciolti (nitrati, nitriti, ammonio, ortofosfati e ortosilicati), dell'ossigeno disciolto e della clorofilla *a*, *b*, e *c*.

L'**ossigeno disciolto** è stato quantificato direttamente a bordo con metodo Winkler (1888): i campioni d'acqua appena raccolti sono stati fissati con idrossidi misti di manganese e conservati al buio fino alla determinazione effettuata con metodo potenziometrico ed elettrodo di platino (All. A1-III) entro le 24 h successive. Le analisi di ossigeno disciolto effettuate sono state utilizzate per calibrare la sonda SBE 43 della SEABIRD.

Le analisi dei **sali nutritivi** sono state condotte nei laboratori del CNR-ISMAR di Ancona secondo il metodo colorimetrico Strickland e Parsons (1972), modello QUAATRO della Bran Luebbe (All. A1-IV) previa filtrazione (filtro da 0,7 µm, GF/F Whatman) e conservazione dei campioni a -22°C in contenitori di polietilene compresso.

Le analisi di **clorofilla** sono state effettuate mediante la metodologia suggerita da Wright *et al.* (1991) e condotte con l'utilizzo di un HPLC Dionex (All. A1-V) dotato di una pompa quaternaria GP50, di un Photodiode Array Detector PDA100 e di una colonna C<sub>18</sub> reversed phase. I dati sono stati acquisiti con il software Chromeleon.

Per l'acquisizione e l'elaborazione dei dati registrati dai correntometri e raccolti tramite la sonda CTD è stato utilizzato un software fornito dalla casa produttrice seguendo le norme suggerite dall'UNESCO (UNESCO, 1988) e riportate sul manuale "Handbook of method protocols" (Artegiani, 1996); le grandezze derivate, come salinità e anomalie della densità, sono state calcolate secondo gli algoritmi dell'UNESCO (UNESCO, 1983).

Infine, per l'analisi dei dati è stato utilizzato un apposito software sviluppato dal CNR-ISMAR e la mappatura dei dati ricavati è stata effettuata con il software Ocean Data View e Grapher 2.

Nella presente relazione sono riportati i risultati ottenuti nel I semestre 2010, mentre per i monitoraggi precedenti fare riferimento a Fabi *et al.*, 2006a; 2010a; 2011a; 2011b; 2011c; 2015).

## **2.2.2. INDAGINI FISICHE E CHIMICHE DEI SEDIMENTI**

**Granulometria** - In laboratorio i campioni di sedimento sono stati pesati tal quali per la determinazione del peso umido utilizzando una bilancia elettronica tipo "Europe" (All. A2-II). Successivamente sono stati posti in contenitori di alluminio e introdotti in stufa (All. A2-III) a 110°C per almeno 24 h. Una volta raggiunta la completa essiccazione si è proceduto alla misurazione del peso secco.

Per la separazione in sabbie e peliti ogni campione è stato immerso in acqua tiepida sino alla sua completa disgregazione; si è quindi proceduto alla setacciatura con maglie da 63  $\mu$ . Il materiale trattenuto dal setaccio, definito come sabbie, è stato fatto essiccare in stufa a 130°C per almeno 24 h ed è stato sottoposto ad indagine granulometrica, ovvero è stata analizzata la distribuzione percentuale in peso dei grani costituenti il campione secondo le loro dimensioni. Per questa analisi è stato utilizzato un set di setacci (All. A2-IV) aventi dimensioni delle maglie decrescenti (4000  $\mu$ , 2000  $\mu$ , 1000  $\mu$ , 500  $\mu$ , 250  $\mu$ , 125  $\mu$ , 63  $\mu$ ). Una volta terminata la setacciatura sono stati pesati i residui di ogni setaccio ed è stata determinata la percentuale conchigliare presente. I dati così ottenuti sono stati riportati su un diagramma semilogaritmico e uniti mediante la cosiddetta "curva granulometrica".

Le peliti (materiale inferiore a 63  $\mu$ ) sono state fatte decantare ed essiccate in stufa a 130°C sino a completa evaporazione. E' stata quindi eseguita l'aerometria mediante l'utilizzo di un densimetro (All. A2-V) per terreni secondo il metodo di Casagrande basato su due proprietà: a) la velocità con cui si depositano i grani in sospensione in un liquido viscoso in quiete dipende dal volume, dalla forma e dal peso dei granuli stessi (Legge di Stokes); b) la densità della sospensione a un dato istante è funzione della qualità del prodotto solido non ancora depositato.

**Idrocarburi Policiclici Aromatici** - Per la determinazione degli Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) ogni campione è stato scongelato e privato dell'eventuale frazione più



grossolana; in seguito, l'analisi è stata compiuta su un'aliquota di circa 20 g (peso umido), mentre una seconda aliquota è stata utilizzata per la determinazione del peso secco.

La determinazione degli IPA è stata effettuata mediante gas cromatografia utilizzando un Gas cromatografo doppia colonna (All. A2-VI). I componenti la miscela (IPA) separati tra loro sono stati rilevati con la tecnica FID (rilevatore ionizzazione di fiamma), che consente di valutare i tempi di ritenzione e l'ampiezza dei picchi relativi. Il limite di rilevabilità dello strumento e quello della metodica corrispondono rispettivamente a 0,05 µg di solvente e 0,002 mg kg<sup>-1</sup> di campione s.s.

Sono stati ricercati i 16 IPA indicati dall'EPA come contaminanti di interesse prioritario, espressi in mg kg<sup>-1</sup> di sostanza secca: Naftene, Acenaftalene, Acenaftene, Fluorene, Fenantrene, Antracene, Fluorantene, Pirene, Benz(a)Antracene, Crisene, Benzo(b)Fluorantene, Benzo(k)Fluorantene, Benzo(a)Pirene, DiBenzo(a,h)Antracene, Benzo(g,h,i)Perilene, Indeno(1,2,3,c,d)Pirene. Le rette di calibrazione sono state preparate con la tecnica della standardizzazione esterna utilizzando come IPA di riferimento il Perilene, che permette anche di normalizzare le aree dei picchi dei singoli componenti la miscela e di confrontarle tra loro ai fini della quantizzazione.

**Metalli pesanti** - Sono stati analizzati i seguenti elementi, espressi in percentuale o mg kg<sup>-1</sup> di sostanza secca: alluminio, bario, cadmio, cromo, mercurio, nichel, piombo, rame, vanadio e zinco.

La mineralizzazione dei campioni è stata effettuata su circa 0,5 mg di campione tal quale (corrispondenti a circa 0,350 mg di sostanza secca) mediante un sistema di digestione a microonde opportunamente programmato, aggiungendo a 8 ml di HNO<sub>3</sub>, 2 ml di HCl, 4 ml di HF e 2 ml di H<sub>2</sub>O. Per neutralizzare l'HF in eccesso al campione mineralizzato sono stati aggiunti 30 ml di soluzione satura di H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> e acqua ultrapura fino a raggiungere un volume finale di 50 ml.

Per la determinazione del **mercurio** è stato seguito il metodo EPA 7473. Il campione è stato sottoposto a trattamento termico per eliminare qualsiasi fase di pretrattamento del campione stesso, potendolo così analizzare tal quale. Il particolare procedimento di decomposizione porta alla riduzione chimica del mercurio, alla sua successiva preconcentrazione su un amalgama d'oro e, infine, alla sua analisi quantitativa in assorbimento atomico (DMA-80 Analizzatore Diretto del Mercurio; All. A2-VII). Le determinazioni di **cadmio** e **piombo** sono state effettuate mediante spettroscopia di assorbimento atomico in fornello di grafite (Varian Spectra AA-220 Z; All. A2-VIII),

secondo la procedura EPA 7010. Le concentrazioni di **alluminio, bario, cromo, nichel, rame, vanadio e zinco** sono state determinate mediante spettrofotometria ad emissione atomica al plasma (Varian Liberty AX ICP-AES; All. A2-IX) seguendo il metodo EPA6010C.

L'accuratezza delle procedure di digestione e di analisi dei campioni è stata verificata impiegando i materiali standard di riferimento PACS-2 Harbour sediment. I recuperi percentuali ottenuti rispetto ai valori certificati dei suddetti materiali sono riportati in Tab. 2-IV.

**Tab. 2-IV** - Recuperi percentuali ottenuti sui materiali certificati PACS-2.

Recupero %	Al	Ba	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	V	Zn
PACS-2	83	101	88	84	109	107	103	98	83	84

Tutti i parametri strumentali sono stati inoltre ottimizzati tramite una risposta tipica strumentale conforme a quella fornita dalla casa costruttrice.

I limiti di rivelabilità strumentale e della metodica per i metalli determinati, relativamente alla strumentazione impiegata, sono riportati in Tab 2-V.

**Tab. 2-V** - Limiti di rivelabilità strumentali (D.L.) e della metodica (M.D.L.) dei metalli determinati.

	Al	Ba	Cd	Cr	Cu	Hg	Pb	Ni	V	Zn
Rilevabilità ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )	78	0,07	0,075	3,2	5,0	0,25	3,2	12,9	27	22,7
Quantificazione ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	14,407	1	0,0029	0,512	0,2951	0,0369	0,2998	0,5907	1,5812	13,932

**Sostanza organica** - La sostanza organica è stata determinata mediante la metodologia Loss on Ignition (LOI). Dal campione di sedimento è stata prelevata un'aliquota di circa 5 g che, posta in apposite vaschette, è stata essiccata in stufa a 105°C per 24 h. Infine il campione è stato calcinato in muffola a 450°C per 12 h.

### 2.2.3. ECOTOSSICOLOGIA DEI SEDIMENTI

#### 2.2.3.1 *Corophium orientale*

Questo saggio biologico consiste nell'esporre per un determinato periodo un numero definito di organismi al sedimento tal quale per valutarne l'eventuale mortalità.

La durata del saggio è funzione del tipo di tossicità (a breve termine o a più lungo termine) da rilevare. In particolare, si considera come “tossicità a breve termine” la mortalità degli organismi dopo 10 gg di incubazione e come “tossicità a più lungo termine” la mortalità dopo 28 gg. Il saggio a 28 gg può essere considerato come un'estensione della tradizionale durata del test a 10 gg in modo da rendere più sensibile il saggio stesso, poiché i contaminanti presenti nel sedimento hanno un periodo maggiore per interagire con gli organismi.

**Campionamento degli organismi** - Gli anfipodi sono stati campionati setacciando il loro sedimento nativo e immediatamente trasportati in laboratorio dove sono stati selezionati in base alla taglia in modo da considerare per il saggio solo organismi di taglia omogenea (circa 4 mm) aventi, presumibilmente, la stessa sensibilità alle sostanze tossiche. Con questa selezione si scartano gli individui giovanili di piccola taglia e quelli di dimensione elevata (adulti, femmine ovigere). Gli anfipodi selezionati sono stati trasferiti in un recipiente ed acclimatati alle condizioni di laboratorio:

- temperatura =  $16 \pm 2^\circ\text{C}$ ;
- salinità =  $36 \pm 2\text{‰}$ ;
- illuminazione = continua;
- ossigeno disciolto nell'acqua sovrastante il sedimento =  $>60\%$ .

**Procedura del saggio** - Il saggio è stato effettuato secondo il protocollo EPA (1994). Il test di tossicità cronica o a più lungo termine (28 gg) è stato allestito in 4 repliche per ogni campione del sedimento testato in beaker di vetro. I sedimenti testati sono stati omogeneizzati e circa 200 cc di ogni campione sono stati posti nel beaker. Sopra il sedimento sono stati aggiunti 750 cc di acqua di mare naturale filtrata. I beakers sono stati sistemati nella stanza condizionata ( $16 \pm 2^\circ\text{C}$ ), areati e coperti con vetrino per minimizzare l'evaporazione dell'acqua ed areati. Dopo 24 h sono stati registrati i parametri iniziali del test (pH, salinità,  $\text{NH}_4^+$  e ossigeno disciolto) e in ogni beaker sono stati inseriti 25 organismi. Come sedimento di controllo è stato usato sedimento nativo (500  $\mu\text{m}$ ) proveniente da un sito non contaminato. Dopo 10 gg il contenuto di ogni beaker è stato setacciato e sono stati contati gli organismi vivi. Sono stati considerati morti gli anfipodi che, dopo una leggera stimolazione, non mostravano alcun movimento degli arti. La sensibilità degli organismi (LC 50) è stata determinata tramite la loro esposizione (20 individui/replica) per 96 h a concentrazioni 0,8; 1,6; 3,2; 6,4  $\text{mg l}^{-1}$  del tossico di riferimento  $\text{CdCl}_2$ .

All'inizio e alla fine del saggio biologico sono stati misurati i seguenti parametri dell'acqua sovrastante il sedimento: pH, salinità,  $\text{NH}_4^+$  e ossigeno disciolto.

**Analisi dei dati** - Il saggio biologico è considerato valido quando la mortalità media all'interno del sedimento di controllo è  $\leq 15\%$  e la mortalità nella singola replica per l'intero periodo di esposizione è  $\leq 20\%$ . Sia nei sedimenti da testare, sia nel sedimento di controllo è stata calcolata la percentuale media ( $\pm$  deviazione standard) degli anfipodi morti. La mortalità rilevata in ogni campione è stata confrontata con quella del sedimento di controllo. La valutazione della tossicità è stata eseguita prendendo in considerazione la mortalità degli organismi osservata nei campioni da saggiare corretta con la formula di Abbott (M). La scala adottata per la quantificazione della tossicità è riportata Tab. 2-VI.

**Tab. 2-VI** – Scala di tossicità relativa al test con *C. orientale*.

Tossicità a lungo termine	Giudizio
M<15%	Assente
15%<M≤30%	Bassa
30<M≤60%	Media
M>60%	Alta

### 2.2.3.2 *Paracentrotus lividus*

Il saggio biologico con l'echinoderma *Paracentrotus lividus* è basato sulla fecondazione delle uova da parte di gameti maschili esposti alla matrice da testare al fine di valutare l'efficacia della fecondazione rispetto al controllo (acqua di mare naturale filtrata). La procedura prevede l'esposizione dello sperma per 1 h alla matrice da testare (elutriato) alla quale vengono aggiunte le uova e dopo 20' il test viene bloccato con l'aggiunta di formaldeide. Al termine della prova vengono contate le uova fecondate con le quali vengono calcolate le percentuali di fecondazione.

**Preparazione degli elutriati** - Gli elutriati sono stati preparati secondo il protocollo EPA (1998). Un'aliquota del sedimento da testare è stata unita con il volume calcolato di acqua di mare naturale filtrata in rapporto 1:4. Le sospensioni ottenute sono state poste in agitazione per 1 h e in seguito centrifugate a temperatura di 10°C per 20' a 3000 rpm. Il sopranatante, che rappresenta l'elutriato, è stato prelevato con cautela e conservato a temperatura di -30°C.

Prima dell'allestimento del test nell'elutriato sono stati misurati pH e salinità.

**Procedimento del test** - Il **test di fecondazione** è stato allestito secondo i protocolli

previsti per questo saggio (EPA, 1995; ASTM, 1998a).

L'emissione dei gameti maschili e femminili, provenienti da almeno 3 individui differenti per ogni sesso, è stata provocata tramite iniezione di 0,5 ml di 1M KCl nella cavità celomatica. Lo sperma è stato raccolto "a secco" e mantenuto a temperatura di 4°C fino al momento del suo utilizzo. La raccolta delle uova è stata eseguita singolarmente per ogni femmina in piccoli contenitori contenenti acqua di mare naturale filtrata capovolgendo l'animale con il suo poro aborale verso l'acqua. Le uova, dopo la loro valutazione (maturità, forma e colore), sono state riunite, lavate (3 volte) mediante decantazione e con le diluizioni successive è stata aggiustata la loro concentrazione finale.

La quantità degli spermatozoi è stata determinata in camera di conta (Thoma). La sospensione dello sperma è stata preparata sulla base del conteggio stimando un rapporto tra uovo e sperma di 1/15.000 che garantisce la percentuale di fecondazione nei limiti del 75-95%. Lo sperma è stato esposto per 1 h alle concentrazioni previste degli elutriati (100, 50 e 25%) e all'acqua di mare naturale filtrata (controllo), tutto in 3 repliche. Le uova sono state aggiunte dopo 1 h e lasciate in contatto con lo sperma per 20', dopodichè il test è stato bloccato mediante aggiunta di 1 ml di formaldeide (37%). La sensibilità dei gameti (EC50) maschili è stata testata mediante la loro l'esposizione (60') alle diluizioni (16; 32; 46; 64  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) del tossico di riferimento  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ .

Il **test di embriotossicità** è stato allestito con la stessa procedura bloccando lo sviluppo dopo 48 h dall'inoculazione delle uova ed è stato condotto alla temperatura di  $16 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Le provette contenenti gli zigoti e i plutei sono state conservate a temperatura di  $5^\circ\text{C}$  fino alla loro valutazione. Al microscopio sono state contate 100 cellule o embrioni e calcolata la percentuale degli zigoti (spermiossicità) oppure embrioni (embriotossicità) allo stadio di pluteo in ogni campione.

**Stima della tossicità** - Al fine di considerare la percentuale di uova che nel controllo non vengono fecondate (test di fertilizzazione) o non arrivano a pluteo (test di sviluppo) è stata applicata la "correzione di Abbott":

$$(x - y) * 100 * (100 - y)^{-1}$$

dove: x = % di uova non fecondate (o embrioni non sviluppati) nel campione da testare;

y = % di uova non fecondate (o embrioni non sviluppati) nel controllo.

In seguito la tossicità degli elutriati è stata stimata sulla base dei valori di EC 20 e di EC 50 calcolate con i metodi Maximum Likelihood Probit o Trimmed Spearman-Kärber versione 1,5. La scala di tossicità adottata è riportata in Tab. 2-VII:

**Tab. 2-VII** – Scala di tossicità relativa al test con *P. lividus*.

Effetto	Tossicità
EC20 $\geq$ 90%	Assente
EC20<90% e EC50>100	Bassa
40% $\leq$ EC50<100%	Media
EC50<40%	Alta

### 2.2.3.3 *Hediste diversicolor*

Questo saggio consiste nel valutare le eventuali variazioni delle concentrazioni di alcuni metalli pesanti negli organismi (previamente analizzati) dopo essere stati posti per 28 gg nel sedimento da testare.

La procedura adottata deriva dall'integrazione delle metodologie proposte da Dillon *et al.* (1993) con le ricerche sperimentali sviluppate dall'Istituto di Biofisica del CNR di Pisa in collaborazione con il CIBM di Livorno (Stefanini, 2000) e in ASTM (1998b).

**Campionamento degli organismi** - Gli organismi non maturi sono stati campionati manualmente dalle porzioni di sedimento asportate da una profondità di 40-50 cm e sottoposti a spurgo per 3 gg in sabbia quarzifera sommersa in acqua e ossigenata in continuo. Durante questo periodo (temperatura: 16 $\pm$ 2°C) gli esemplari sono stati adattati alle condizioni del test. L'acqua sovrastante la sabbia quarzifera è stata portata gradualmente alla salinità di 36-38‰ richiesta per il test. Nessun tipo di alimentazione è stato somministrato per l'intera durata dello spurgo e durante il test vero e proprio. Circa 10 esemplari spurgati sono stati congelati e usati come "bianco" per la concentrazione dei metalli al tempo zero.

**Procedura del saggio** - Il test di bioaccumulo è stato allestito in 3 repliche per ogni campione del sedimento testato in beakers di vetro. In ogni beaker sono stati posti circa 300 cm<sup>3</sup> di sedimento da testare e altrettanto per il sedimento di controllo. Sopra il sedimento sono stati aggiunti circa 600 ml di acqua di mare naturale filtrata. I beakers sono stati posti in camera condizionata, coperti con un vetrino e areati. Dopo 24 h sono stati misurati i parametri dell'inizio del test: pH, salinità, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e ossigeno disciolto. Cinque individui di *H. diversicolor* sono stati inseriti in ogni beaker. Per l'intera durata del test i beakers sono stati mantenuti alla temperatura di 16 $\pm$ 2°C, aerati e illuminati per 24 h. Dopo 28 gg i parametri finali del test sono stati registrati e gli esemplari recuperati dai singoli beakers tramite setacciatura.

Gli organismi sono stati contati e reinserti nei beakers contenenti 300 cm<sup>3</sup> di sabbia quarzifera e acqua di mare naturale filtrata per tre giorni. Alla fine dello spurgo sono stati recuperati e lavati per un minimo di 1 h in acqua distillata per liberarli dai residui della sabbia e muco e congelati; successivamente sono stati mineralizzati 10-30 mg di campione con 2 cc di HNO<sub>3</sub> sovrapuro al 65% e 1 cc di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% in digestore a microonde. La determinazione degli elementi è stata eseguita in AAS seguendo le medesime modalità utilizzate per l'analisi dei sedimenti.

Elaborazioni dei dati - Per valutare l'eventuale bioaccumulo nei tessuti degli organismi è stata adottata la seguente formula:

$$D = Ce/Cb$$

dove:

**Cb** - concentrazione del metallo nei tessuti degli organismi prima (bianco) della loro esposizione ai sedimenti testati;

**Ce** - concentrazione del metallo nei tessuti degli organismi dopo la loro esposizione ai sedimenti testati.

Dal punto di vista matematico un rapporto >1 indica che la concentrazione del metallo dopo 28 gg di esposizione al sedimento da testare è superiore a quella rilevata negli organismi appena prelevati e da ciò si può dedurre un bioaccumulo. Viceversa, un rapporto <1 indica un rilascio da parte dell'organismo. Tuttavia, si ritiene opportuno tenere in considerazione l'incertezza estesa di misura che, per quanto riguarda i metalli, è di circa il 20%. Di conseguenza, un metallo è considerato bioaccumulato quando il rapporto tra la concentrazione dopo esposizione al sedimento da testare e quella al tempo zero è pari o maggiore a 1,20 (corrispondente a un incremento delle concentrazioni rispetto al bianco ≥20%).

#### **2.2.4. ANALISI DI INQUINANTI IN *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS***

##### **2.2.4.1 Biomarkers**

Uno degli aspetti principali dell'uso di biomarker molecolari e cellulari è la loro capacità di anticipare cambiamenti ai livelli più alti di organizzazione biologica (popolazione, comunità, ecc.) permettendo di prevenire il verificarsi di effetti negativi a lungo termine a livello di popolazione e comunità. La valutazione degli indici di stress, applicati in organismi "sentinella" come *M. galloprovincialis* consente, attraverso la descrizione dello stato di benessere della popolazione oggetto di studio, di arrivare ad una valutazione

integrata della qualità dell'ecosistema di cui gli stessi organismi fanno parte. Le risposte che l'organismo realizza nei confronti dello stress chimico rappresentano quindi potenziali biomarkers utilizzabili in indagini ecotossicologiche (Nasci *et al.*, 1989) come segnali del livello di contaminazione di un determinato ambiente e come indicatori del livello di rischio tossicologico al quale una popolazione è esposta (McCarthy e Shugart, 1990; Lagadic e Caquet, 1998). Se si dispone di una serie di biomarkers è possibile valutare il livello di rischio a cui la popolazione è sottoposta (omeostasi, risposte compensative, risposte di riparo, malattia), producendo quindi informazioni sia di tipo qualitativo (specificità del biomarker) che semi-quantitativo (dose).

Quando un composto tossico penetra in un organismo, parallelamente all'interazione con il bersaglio primario d'azione tossica, si sviluppano delle risposte che tendono a riportare il sistema a uno stato di omeostasi grazie all'induzione di diversi sistemi di detossificazione. Tali risposte hanno la funzione di diminuire l'effetto tossico del composto inquinante e, solo quando il meccanismo omeostatico difensivo ad un determinato livello funzionale non è più in grado di bilanciare l'azione dell'inquinante, si manifestano effetti ai livelli superiori di organizzazione strutturale (individuo, popolazione e comunità) con un corrispondente aumento dell'importanza ecologica. Nell'applicazione e interpretazione dei biomarkers è importante tenere presente che le risposte generate da un organismo in seguito all'azione tossica di un inquinante sono influenzate dal suo stato ormonale e nutrizionale, dall'età, dal sesso e, in generale, dalla sua capacità di contrastare tale stress chimico a discapito di un forte dispendio energetico. Per questo motivo la conoscenza delle caratteristiche fisiologiche e dei cicli riproduttivi dell'organismo preso in esame risulta importante per la comprensione e corretta interpretazione delle risposte generate dal singolo individuo (Viarengo, 1989; Nasci *et al.*, 2002).

L'informazione qualitativa sullo stress che si ottiene utilizzando i biomarkers può essere specifica o non specifica. E' "non specifica" quando le risposte a livello molecolare, cellulare e fisiologico non possono essere direttamente ricondotte ad una sola classe di contaminanti, ma rappresentano lo stato generale di stress dell'organismo provocato non solo dall'azione tossica di composti inquinanti, ma anche da fattori fisici e biologici naturali (ad es. variazione della temperatura, salinità, ossigeno, disponibilità di cibo, ecc.). Tra gli indici di stress generali si riconoscono quelli somatici, come l'indice di condizione e il test di sopravvivenza in aria, oppure alterazioni istopatologiche e cellulari come la stabilità delle membrane lisosomiali, il contenuto di lipofuscine e lipidi neutri. Si



definiscono biomarkers “specifici” quelli in cui le risposte molecolari e biochimiche sono correlabili all’esposizione ad una specifica classe di contaminanti. L’induzione di metallotioneine, ad esempio, rappresenta un indice di esposizione a metalli pesanti (Viarengo *et al.*, 1985), mentre la determinazione del contenuto di vitellogenina è un indicatore della presenza di sostanze xenobiotiche ad attività estrogenica (Blaise *et al.*, 1999).

I biomarkers possono essere classificati come biomarkers di “esposizione” quando le risposte di un organismo, ai diversi livelli di complessità strutturale, indicano l’esposizione a un composto chimico o a una classe di composti chimici, ma non forniscono indicazioni specifiche sull’effetto tossicologico nell’organismo stesso. Complementari a questi sono i biomarkers di “effetto”, dove le risposte di un organismo indicano sia l’esposizione a composti inquinanti che l’effetto tossico di tali sostanze.

Nei programmi di biomonitoraggio ambientale è importante la scelta di una batteria di biomarkers che comprenda sia quelli generali che specifici. I primi, infatti, consentono di stabilire la presenza o meno di un rischio associato all’azione tossica di composti inquinanti di cui non si conosce la natura mentre, una volta identificato il pericolo, l’applicazione di biomarkers specifici consente di individuare le classi di contaminanti presenti e gli effetti ecotossicologici sugli organismi (Cajaraville *et al.*, 2000; Domouhtsidou *et al.*, 2004; Petrovic *et al.*, 2004).

In questo studio sono stati utilizzati i seguenti biomarkers:

- aspecifici: indice di condizione, sopravvivenza in aria, stabilità lisosomiale;
- specifici: frequenza di micronuclei, contenuto di lipofuscine, lipidi neutri, malodialdeide, metallotioneine, vitellogenina, proteine e attività dell’enzima catalasi.

Sugli stessi organismi sono state analizzate le concentrazioni di alcune classi di composti organici e metalli pesanti al fine di stimarne il bioaccumulo.

In campo ambientale i mitili sono risultati gli organismi marini più adatti per effettuare queste indagini in quanto presentano le caratteristiche necessarie per essere efficacemente utilizzati nei monitoraggi concernenti l’inquinamento delle acque marine costiere: sono organismi sessili, per cui danno una risposta dettagliata sull’area investigata; sono filtratori, per cui assorbono più facilmente i composti xenobiotici; sono sufficientemente resistenti a stress ambientali quali la variazione della temperatura, della salinità, dell’ossigeno disciolto e della disponibilità di cibo. Sono inoltre noti i meccanismi di risposta del mitilo alle variazioni ambientali. Infatti, come altri Lamellibranchi, i mitili

hanno sviluppato dei sistemi di detossificazione dai metalli pesanti, biotrasformandoli in composti meno tossici o chelandoli con molecole in grado di diminuirne notevolmente la tossicità. Un esempio è dato dalle metallotioneine che vengono accumulate nei tessuti (Viarengo, 1989).

Per tali motivi, già a partire dagli anni '90 sono stati sviluppati indici di stress valutabili nei mitili in relazione all'esposizione a contaminanti chimici in modo da poter associare ai livelli di contaminazione gli eventuali effetti tossici e quindi avere un risultato con maggiore significato ecologico (Kohler e Riisgard, 1982; de Zwaan e deKock, 1988; Livingstone e Pipe, 1992).

Risulta quindi chiara la motivazione circa l'uso di *M. galloprovincialis*, organismo sessile e filtratore, quale specie interessante sia nei test di biomonitoraggio che per studi di esposizione in ambiente controllato.

**Sopravvivenza in aria** - Il tempo di sopravvivenza in aria, o "Stress On Stress", è un indice generale particolarmente sensibile nell'individuare le condizioni di stress ambientale a cui sono sottoposti i bivalvi. La definizione di tale parametro si basa sulla naturale capacità di questi organismi intertidali di resistere a brevi periodi di esposizione all'aria (Eertman e de Zwann, 1994). Durante i periodi di emersione i molluschi chiudono le loro valve lasciando una piccola apertura attraverso la quale l'ossigeno atmosferico può diffondere nella cavità palleale. La velocità con cui l'ossigeno viene consumato dipende da numerosi fattori, quali ad esempio temperatura, stagione, acclimatazione e periodo riproduttivo. In condizioni di prolungata esposizione i molluschi riescono a sopravvivere per molti giorni grazie all'evoluzione di una particolare strategia biochimica: il loro metabolismo, infatti, passa da aerobico ad anaerobico e in questo caso i carboidrati, e soprattutto il glicogeno, diventano la principale fonte d'energia attraverso processi di fermentazione che consentono di aumentare la normale produzione di ATP in condizioni anaerobiche (de Zwaan e Wijsman, 1976).

I molluschi esposti a sostanze tossiche o a stress naturali in genere hanno un metabolismo accelerato (de Zwaan e de Kock, 1988) e, pertanto, ci si aspetta che una volta esposti all'aria il loro tempo di sopravvivenza sia minore.

Tra i vari stressori naturali che possono influenzare il tempo di sopravvivenza in aria vi sono la temperatura, la salinità e altre variabili stagionali.

Vari esperimenti realizzati *in vivo* esponendo gli organismi a concentrazioni subletali di contaminanti (sia metalli pesanti che inquinanti organici) hanno evidenziato una

diminuzione del tempo di sopravvivenza in aria suggerendo l'utilizzo di tale parametro quale indice di stress generale applicabile nei programmi di monitoraggio (Viarengo *et al.*, 1995).

L'analisi è stata effettuata su un campione di 30 organismi per ciascun sito (VA, LA e controllo) i quali, subito dopo l'arrivo in laboratorio, sono stati lavati, asciugati e mantenuti a temperatura costante ( $18\pm 1^\circ\text{C}$ ) in un contenitore a tenuta stagna con tasso di umidità a saturazione. Quotidianamente sono stati registrati e asportati gli individui morti fino ad esaurimento degli organismi, registrando  $LT_{50}$  e  $LT_{90}$ . Sono stati considerati morti gli individui con le valve aperte che non rispondevano a nessuna sollecitazione.

**Indice di condizione** - L'indice di condizione (IC) è un parametro che consente di riassumere l'attività fisiologica dell'organismo (crescita, riproduzione, secrezione, ecc.) in determinate condizioni ambientali e di fornire un'informazione globale sul suo stato di salute (Lucas e Beninger, 1985). E' importante tenere presente che tali indici risultano fortemente correlati con la temperatura dell'acqua, la disponibilità di cibo e il ciclo gametogenetico (Okumus e Stirling, 1998), per cui sono caratterizzati da variazioni stagionali che dipendono sia da fattori intrinseci che estrinseci.

L'indice di condizione utilizzato nella presente indagine è un indice statico e prevede l'essiccamento delle parti molli, procedimento che permette di eliminare la deviazione dei valori dovuta alle fluttuazioni del contenuto d'acqua nei tessuti, spesso rilevanti in questi organismi.

Tra i vari indici di condizione è stato utilizzato, per la sua praticità il rapporto tra peso secco delle parti molli (g) e peso secco della conchiglia (g) espresso come  $I.C.\times 100$  (Walne, 1976). Per ogni sito di prelievo (lontano anodo, vicino anodo e controllo) è stato preso un campione di 30 individui. La carne e la conchiglia di ciascun esemplare sono state essiccate separatamente in stufa (All. A5-I) a  $90^\circ\text{C}$  per 48 h e successivamente ne è stato registrato il peso.

**Micronuclei** - Molti inquinanti ambientali cancerogeni e mutageni (tra i quali idrocarburi policiclici aromatici e alcune clorodiossine) sono in grado di danneggiare il DNA inducendo delle modificazioni che, quando eccedono la capacità di riparo dell'organismo, possono causare danni irreversibili al patrimonio genetico.

Inizialmente identificati nel 1891 da Howell negli eritrociti e in seguito descritti da Jolly nel 1905, i micronuclei (MN) sono strutture contenenti cromatina circondata da una membrana, presenti nel citoplasma e senza alcuna connessione con il nucleo principale

della cellula.

I MN si formano per perdita di un cromosoma intero o frammenti di cromatina durante la divisione cellulare o anche per apoptosi e diventano rilevabili come MN distinti dal nucleo principale della cellula nell'interfase successiva alla loro formazione (Heddle *et al.*, 1991). La formazione di MN può essere dovuta all'azione di composti organici (Bolognesi *et al.*, 2004) e inorganici (Bolognesi *et al.*, 1999), all'invecchiamento cellulare e quindi all'azione dei processi di riparazione del DNA, alla presenza di siti fragili nel cromosoma, a instabilità genetica o a ipometilazione del DNA (Stopper e Müller, 1997). I micronuclei presenti nella cellula possono essere evidenziati (Bolognesi *et al.*, 1996) usando diversi coloranti e la loro frequenza, che può essere quantificata microscopicamente con citometria a flusso o mediante immunofluorescenza, è utilizzata come misura di danno genetico.

Recentemente, nell'ambito del monitoraggio ambientale, il test è stato applicato anche ai molluschi bivalvi, e in particolare ai mitili, per valutare la presenza nell'ambiente marino di potenziali inquinanti genotossici (Bolognesi *et al.*, 2004). Uno degli aspetti di maggior interesse di questo test è il suo elevato significato ecotossicologico dal momento che l'attività genotossica di molti composti inquinanti può portare, nel corso delle generazioni, ad alterazioni non solo a livello di singolo individuo, ma anche ai livelli più elevati di organizzazione biologica quali popolazione e comunità (Mersch *et al.*, 1996). Viene quindi utilizzato come biomarker di esposizione e/o effetto a sostanze genotossiche e può essere predittivo del rischio ecologico.

Le frequenze di MN nei mitili sono influenzate da fattori fisici, come la temperatura, e fisiologici, come l'età dell'organismo (Brunetti *et al.*, 1992), che devono essere tenuti in considerazione nella valutazione dei risultati di monitoraggi ambientali.

Relativamente alle analisi di laboratorio, l'allestimento dei preparati citologici è stato effettuato direttamente sul campione fresco lo stesso giorno di arrivo. L'emolinfa di ogni individuo (per un totale di 5 esemplari per campione) è stata prelevata dal muscolo adduttore posteriore con una siringa contenente Alsever (soluzione salina al 33‰ composta di NaCl, Na citrato x 2H<sub>2</sub>O, acido citrico x 1H<sub>2</sub>O e glucosio a pH fisiologico). Alcune gocce della sospensione cellulare, fissata in metanolo:acido acetico, sono state posizionate su vetrino e colorate con Giemsa.

Per ogni mitilo sono state osservate al microscopio ottico (All. A5-II) circa 2000 cellule di emociti e su queste sono state determinate le frequenze di micronuclei e delle anomalie nucleari (Ottaviani e Franceschini, 1997).

**Valutazione del Contenuto di fosfati alcalino-labili (Vitellogenina)** - Alcuni composti comunemente noti come “distruttori endocrini” (Endocrine Disruptors Compounds, EDC) hanno destato un notevole interesse negli ultimi anni per la loro capacità di influenzare negativamente le normali funzioni del sistema endocrino di molti organismi, con possibili effetti dannosi sul loro sviluppo e successo riproduttivo (Gagnè *et al.*, 2001). Viene considerato EDC un agente esogeno in grado di interferire con la produzione, il rilascio, il trasporto, il metabolismo, l’azione o l’eliminazione nell’organismo di ormoni naturali responsabili del mantenimento dell’omeostasi e della regolazione dei processi di sviluppo (Jiménez, 1997).

Ad esplicitare una funzione endocrina sono molto spesso molecole molto dissimili tra loro; recenti studi condotti sui pesci (Hansen *et al.*, 1998) ne hanno dimostrato la capacità di indurre la sintesi di talune proteine quali la vitellogenina. La vitellogenina è una lipofosfoproteina del tuorlo d’uovo, contenente rame e zinco, sintetizzata nel fegato di femmine di vertebrati e nell’epatopancreas di invertebrati (molluschi), sotto il controllo estrogenico. E’ presente nel plasma delle femmine prima dell’ovulazione (Gagnè *et al.*, 2002), mentre nei maschi esiste il gene per la vitellogenina, ma la proteina non viene normalmente sintetizzata. L’esposizione a sostanze estrogeniche è in grado di attivare questo gene, inducendo la sintesi di vitellogenina nell’emolinfa o nel sangue degli organismi esposti. Numerosi studi condotti sia su vertebrati che invertebrati hanno dimostrato un incremento dei livelli di vitellogenina in organismi di sesso maschile provenienti da siti contaminati (Taylor e Harrison, 1999).

La vitellogenina non è stata identificata in *Mytilus* sp., anche se evidenze indirette della presenza di proteine vitellogenina simili sono state proposte in alcuni studi (Aarab *et al.*, 2004).

Il protocollo adottato è stato modificato sulla base di quello proposto da Blaise *et al.* (1999). La gonade e il mantello di 15 maschi e 15 femmine per ogni sito di prelievo sono stati pesati e omogeneizzati in tampone Tris HCl con saccarosio ed EDTA a pH 7,5, centrifugato (All. A5-III) a 10.000 x g per 15’ per ottenere la frazione citosolica. Il supernatante è stato quindi congelato con azoto liquido e conservato a -80°C fino al momento dell’analisi, quando è stato aggiunto metil-t-butil-etero per l’estrazione delle lipofosfoproteine che in seguito hanno subito trattamento alcalino per il rilascio del fosfato libero.

Il livello totale di fosfato è stato determinato con il metodo colorimetrico con

fosfomolibdeno, mentre il livello totale di proteine è stato determinato con il metodo di Bradford (1976). Alla determinazione quantitativa di fosfolipoproteine è stato accoppiato un metodo per determinare il sesso dei mitili per via spettrofotometrica (All. A5-IV) come proposto da Jabbar e Davies (1987) al fine di normalizzare il risultato rispetto al sesso degli esemplari esaminati.

**Stress ossidativo: valutazione dell'attività dell'enzima catalasi** - Gli enzimi antiossidanti, normalmente presenti in tutti gli organismi aerobi, sono responsabili della detossificazione degli ossiradicali liberi, composti dell'ossigeno altamente tossici prodotti continuamente nei sistemi biologici durante i normali processi metabolici. Tuttavia, l'esposizione ad alcuni xenobiotici (dioli aromatici, chinoni, idrossilamine aromatiche e metalli di transizione) e la presenza di condizioni ambientali quali anossia, ipossia e mancanza di cibo sono in grado di aumentare la produzione intracellulare di ossiradicali: la valutazione dell'aumento dello stress ossidativo negli organismi rappresenta un sensibile biomarker di stress ambientale (Livingstone, 1991; Buchner *et. al.*, 1996; Sjölin e Livingstone, 1997; Regoli *et. al.*, 1997). Questo enzima rappresenta una risposta costitutiva e molto attiva agli stress ossidativi essendo in grado di ridurre l' $H_2O_2$  prodotto dalla superossidodismutasi in acqua e ossigeno. Alti livelli di attività di catalasi sono stati evidenziati in mitili nativi e trapiantati in siti caratterizzati da un significativo carico di inquinanti (Porte *et al.*, 1991). Per questi motivi la determinazione dell'attività di catalasi si è rivelata particolarmente utile nelle indagini ambientali.

In laboratorio tale attività è stata determinata in aliquote di ghiandola di mitilo (3 pool di 5 individui per ogni stazione di prelievo) preventivamente lavate con una soluzione di NaCl (0,9%), omogeneizzate in 4 volumi di tampone Tris-HCl pH 7,4 contenente saccarosio e infine centrifugate (All. A5-III), prima a 2.000 x g per 10' per eliminare la frazione lipidica, e successivamente a 9.000 x g per 30' per ottenere la frazione citosolica. L'attività dell'enzima di catalasi è stata determinata per via spettrofotometrica (Aebi, 1974; All. A5-IV) a 240 nm valutando la diminuzione in assorbanza dell'estratto dovuta al consumo di  $H_2O_2$ .

**Stress ossidativo: valutazione della concentrazione di malondialdeide** - La perossidazione lipidica è un meccanismo ben noto di danno cellulare che viene ampiamente utilizzato come indicatore di stress ossidativo.

Le perossidasi lipidiche, derivanti da acidi grassi poliinsaturi, sono instabili e si decompongono a formare una serie complessa di composti. Questa include composti

reattivi carbonilici tra i quali il più abbondante è la malondialdeide (MDA). La valutazione del contenuto in malondialdeide in un tessuto o in un fluido biologico è quindi utilizzata quale indice di perossidazione lipidica.

Il metodo applicato si basa sulla reazione cromogenica tra N-metil-2-fenilindolo (NMPI) con MDA a caldo. Una molecola di MDA reagisce con due molecole di NMPI a formare un composto colorante (carbocianina) la cui assorbanza è rilevabile allo spettrofotometro (All. A5-IV) ad una opportuna lunghezza d'onda.

Al momento dell'analisi 3 pool provenienti da ogni sito di prelievo costituiti ciascuno da 3 ghiandole digestive sono stati lavati con una soluzione di NaCl (0,9%), omogeneizzati in 2 volumi di tampone Tris-HCl contenente  $\beta$ -mercaptoetanololo come antiossidante e centrifugati (All. A5-III) a 10.000 x g per 10' a 4°C. A 100  $\mu$ l di supernatante estratto sono stati aggiunti 650  $\mu$ l di NMPI, 100  $\mu$ l di acqua distillata e 150  $\mu$ l di HCl (37%). Il campione è stato quindi incubato a caldo, raffreddato in ghiaccio, centrifugato a 10.000 x g e infine letto allo spettrofotometro. La concentrazione di MDA è stata stimata utilizzando come riferimento una curva standard a concentrazioni crescenti di tetrametossipropano (TMOP). La concentrazione totale in proteine del campione è stata determinata attraverso il metodo di Bradford (1976).

**Valutazione del Contenuto in Metallotioneine** - La valutazione del contenuto in metallotioneine rappresenta un importante indice di stress specifico. Le metallotioneine sono proteine cellulari inducibili dall'accumulo nella cellula di cationi di metalli pesanti; pertanto, la valutazione della loro concentrazione tissutale nelle cellule della ghiandola digestiva del mitilo risulta un parametro specifico per quantificare la risposta biologica degli animali all'inquinamento da metalli pesanti quali Cu, Cd, Hg, Zn, Pb, ecc.

Al momento dell'analisi i tessuti (3 pool di 5-7 individui per ogni stazione) sono stati omogeneizzati in 3 volumi di Saccoroso/Tris-HCl addizionati di Leupeptina e  $\beta$ -mercaptoetanololo. L'omogenato è stato quindi centrifugato (All. A5-III) a 7.000 x g per 25' per ottenere una frazione solubile contenente le metallotioneine. Il soprannatante è stato successivamente precipitato con etanolo-cloroformio con il duplice scopo di rimuovere i tioli a basso peso molecolare e concentrare le metallotioneine; 1 ml di citosol è stato quindi addizionato con 1,05 ml di etanolo freddo e cloroformio e centrifugato a 6000 x g per 10'. Il soprannatante così ottenuto è stato addizionato di 3 volumi di etanolo freddo e mantenuto a -20°C per 1 h e quindi centrifugato a 6000 x g per 10' in rotore oscillante. Il pellet è stato lavato una volta con etanolo e cloroformio nel buffer di omogeneizzazione, ricentrifugato,

insufflato con azoto e risospeso in NaCl 0,25 M addizionato di 150 µl di HCl e EDTA. Ai campioni così risospesi è stato aggiunto DTNB (acido ditiobisnitrobenzoico) preparato al momento dell'uso e quindi sono stati centrifugati a 3.000 x g. L'assorbanza è stata valutata per via spettrofotometrica (All. A5-IV) misurandola a 412 nm.

**Valutazione del Contenuto di Proteine** - La determinazione della concentrazione delle proteine è stata condotta per ogni sito sulla frazione citosolica ottenuta da ciascuno dei biomarkers utilizzati nel programma di monitoraggio secondo il metodo di Bradford (1976), utilizzando come standard l'albumina di siero bovino e lo spettrofotometro (All. A5-IV) ad una lunghezza d'onda di 595 nm.

**Valutazione della stabilità delle membrane lisosomiali** - La valutazione della stabilità delle membrane lisosomiali delle cellule della ghiandola digestiva del mitilo permette di ottenere un indice integrato della presenza di inquinanti nell'ambiente marino e degli effetti tossici di tali sostanze. E' noto, infatti, che inquinanti quali metalli pesanti, Idrocarburi Aromatici e PCB, anche se presenti in mare in concentrazioni minime, determinano una destabilizzazione delle membrane dei lisosomi, la cui aumentata permeabilità porta ad un aumento del catabolismo delle macromolecole (proteine, RNA, DNA, ecc.), autofagia e, quindi, danno cellulare. E' importante ricordare che i diversi inquinanti presenti nell'ambiente marino presentano effetti sinergici sulla destabilizzazione delle membrane lisosomiali; questo indice di stress rappresenta, quindi, la risposta dell'organismo all'azione combinata di più tossici co-presenti nell'ambiente marino (Lowe *et al.*, 1995).

In laboratorio le ghiandole digestive dei mitili provenienti da ciascun sito sono state tagliate in modo tale da ottenere delle sezioni trasversali dei tubuli disposti parallelamente all'asse longitudinale della ghiandola stessa e poste in fila su apposito supporto in alluminio (chuck) per criostato (All. A5-V) precedentemente raffreddato in ghiaccio. Successivamente, il supporto con i frammenti è stato posto per 15" in un piccolo recipiente contenente N-esano, precedentemente raffreddato con azoto liquido. Il chuck è stato poi avvolto in 4-5 strati di Parafilm e posto immediatamente a -80°C. Al momento dell'analisi, per mezzo di un criostato, sono state ottenute sezioni di 10-20 µm di spessore con un'angolazione di taglio di 15°. Le sezioni sono state quindi trasferite su vetrini tenuti a temperatura ambiente. La stabilità della membrana lisosmiale è stata testata attraverso l'enzima N-acetyl-hexosaminidase che ha come substrato il naphtol As-BI N-acetyl-β-D-glucosaminide.



Le sezioni preparate come descritto in precedenza sono state trattate in una vaschetta di Hellendal con un tampone destabilizzante le membrane lisosomiali a 37°C per tempi diversi (0, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 40'), in modo da determinare il tempo di trattamento richiesto per labilizzare interamente le membrane lisosomiali (periodo di labilizzazione). Il set di vetrini è stato trasferito nel mezzo di incubazione del substrato contenente naphthol As-BI N-acetyl-β-D-glucosaminide precedentemente disciolto in 2,5 ml di 2-metossietanolo e portato a volume con il tampone citrato contenente Polipep, un polipeptide a bassa viscosità che agisce come stabilizzante per le sezioni. L'incubazione con il substrato è stata di 20' a 37°C nella vaschetta di Hellendal in un bagno agitante. I vetrini sono stati successivamente risciacquati in acqua di mare filtrata a temperatura ambiente o in una soluzione di NaCl al 3% a 37°C per 2' prima del loro trasferimento per 10' a temperatura ambiente in un tampone fosfato pH 7,4 contenente il colorante diazoinico fast violet B blue. I vetrini, risciacquati in acqua corrente per 5', sono stati successivamente fissati con gelatina glicerinata. Le sezioni così ottenute sono state analizzate mediante un sistema di analisi d'immagine al microscopio ottico (All. A5-II) per la determinazione del periodo di labilizzazione lisosomiale. Le analisi sono state eseguite almeno in quintuplicato.

**Accumulo di Lipidi neutri nei lisosomi** - Questo indice valuta l'alterazione delle membrane lisosomiali derivata dall'esposizione a idrocarburi aromatici che determinano un accumulo di lipidi neutri insaturi all'interno dei lisosomi.

Le sezioni, preparate al criostato (All. A5-V) con la stessa modalità seguita per la valutazione della stabilità delle membrane lisosomiali, sono state fissate in calcio-formolo per 15' a 4°C, risciacquate in acqua distillata e poste in una soluzione di trietilfosfato. Successivamente sono state colorate con una soluzione di oil red in trietilfosfato a 20°C per 15', lavate in trietilfosfato per 30", risciacquate in acqua distillata e montate con gelatina. Le sezioni così ottenute sono state analizzate al microscopio ottico (All. A5-II) mediante un sistema di analisi d'immagine che determina la percentuale di colorazione dei lisosomi dovuta all'accumulo dei lipidi neutri insaturi.

**Accumulo di Lipofuscine nei lisosomi** – Questo metodo permette di determinare l'accumulo nei lisosomi dei prodotti finali della perossidazione lipidica delle membrane cellulari: le lipofuscine. Con il termine di ossidazione lipidica si intende una serie di reazioni chimiche favorite da specie reattive dell'ossigeno (ROS) che causano danni alle molecole lipidiche delle membrane cellulari. Gli eventi perossidativi si verificano

comunemente nelle cellule viventi, anche in condizioni fisiologiche, in quanto rappresentano una via catabolica per gli acidi grassi insaturi di membrana. L'esposizione a sostanze xenobiotiche, tra cui i contaminati organici, può favorire fenomeni perossidativi, provocando danni cellulari. Il processo di perossidazione porta alla formazione di miscele complesse di prodotti di degradazione lipidica altamente tossici, in grado di interagire sia con le proteine di membrana che con altri componenti cellulari alterandone le funzioni. Al termine del processo, i prodotti vanno ad accumularsi nel sistema vacuolare lisosomiale sotto forma di lipofuscine. Studi recenti sembrano evidenziare un contributo da parte delle lipofuscine all'accumulo dei metalli pesanti nella ghiandola digestiva. Infatti, il metallo può rimanere intrappolato nel granulo di lipofuscina legandosi stabilmente ad esso, oppure può legarsi ai gruppi acidi dei lipidi ossidati, restando così vincolato in maniera non stabile al granulo. Come per i lipidi neutri insaturi, questo tipo di analisi utilizza una metodologia quantitativa. Il contenuto in lipofuscine viene valutato utilizzando il metodo Schmorl (Moore, 1990).

In laboratorio le sezioni preparate al criostato (All. A5-V) sono state fissate in calcio-formolo a 4°C, risciacquate in acqua distillata e poste nel mezzo di reazione contenente cloruro di ferro e potassio ferrocianuro per 5'. Successivamente, sono state lavate in acido acetico, risciacquate in acqua, montate su vetrino ed analizzate mediante un sistema di analisi d'immagine al microscopio ottico (All. A5-II) per la determinazione della colorazione dei lisosomi dovuta all'accumulo di lipofuscine.

**Real Time PCR (qPCR)** - L'amplificazione del DNA costituisce una tecnica d'indagine consolidata in campo biomedico e solo di recente è stata implementata con tecniche innovative per lo studio della qualità degli ambienti marini. La tecnica di Real Time PCR consente di monitorare e quantificare una molecola target mentre la reazione biochimica che le produce la sua amplificazione è in corso. La metodologia prevede l'amplificazione selettiva e quantificazione in vitro di una sequenza di DNA target. Ciò è reso possibile dall'impiego di diversi prodotti chimici fluorescenti detti *reporter* che correlano l'amplificazione con l'intensità della fluorescenza (Higuchi *et al.*, 1993). La reazione di una classica PCR ad un certo numero di cicli giunge a plateau; ciò solitamente è indipendente dalla quantità iniziale di templati. Il sistema giunge a plateau per un ampio raggio di DNA di partenza. Grazie alla PCR quantitativa si può, quindi, monitorare la quantità di DNA prima del plateau, durante la fase esponenziale di crescita, per risalire alla quantità di template di partenza.

Con particolare riferimento all'ambiente marino la q PCR può essere utilizzata per quantificare l'espressione di geni funzionali considerati bioindicatori.

In particolare nella presente esperienza di monitoraggio è stata prevista l'estrazione del RNA dalle cellule delle ghiandole digestive di mitilo, la retroscrittura dell'RNA in cDNA ed infine l'amplificazione del cDNA tramite PCR. In questo caso, rispetto alla sequenza completa rappresentata dall'intero RNA, il metodo di studio si è focalizzato sulla quantificazione di due sequenze geniche, MT<sub>10</sub> ed MT<sub>20</sub>, responsabili della sintesi delle proteine metallo-chelanti "metallotioneine" (Dondero *et al.*, 2005). Il test è stato adottato a partire dall'estate 2008 in seguito alla disponibilità di un'nuova tipologia di sonde Taqman ad alta selettività per i geni codificanti le proteine metallotioneine oggetto delle indagini.

La tecnologia di qPCR adottata nel corso delle indagini ha previsto:

- l'utilizzo di fluorocromi intercalanti del DNA tipo SYBR Green, una molecola fluorescente non specifica che si lega al solco minore del DNA a doppio filamento (eccitazione/emissione massima a 494/521 nm);
- l'impiego di sonde ad idrolisi tipo "TaqMan". Che consiste in una sequenza oligonucleotidica che, come i primers della PCR, viene disegnata per essere complementare alla sequenza bersaglio del gene da amplificare. Tale presenta all'estremità 5' un fluoroforo "reporter" come HEX (esacloro-6-carbossifluorescina) ed all'estremità 3' una molecola "quencher" rappresentata dall' TAMRA (6-carbossitetrametilrodamina);
- L'uso di acqua RNA-se e DNA-se free.

Operativamente, 0,1 gr di ghiandola digestiva viene omogenata in Trizol ed incubata a temperatura ambiente per 5 min per favorire la completa dissociazione dei complessi nucleoproteici. In seguito vengono aggiunti 100 µL di cloroformio e dopo 3 minuti l'estratto viene centrifugato (10.000 x g per 5' a 4° C) realizzando una separazione in due fasi: la fase inferiore arricchita in fenolo rosso ed una superiore acquosa contenente l'RNA. La fase acquosa viene trasferita in una eppendorf e l'RNA raccolto viene concentrato mediante precipitazione pre mezzo di trattamenti sequenziali a base di alcool isopropilico ed etanolo (75%) seguiti da centrifugazione a 10.000 x g per 10' a 4°C. Il surnatante ottenuto viene quindi eliminato ed il pellet depositato sul fondo della provetta viene risospeso in 100 mM sodio acetato ed etanolo (100 %). Il passaggio successivo prevede la purificazione attraverso trattamento con LiCl (8M), incubato a -20°C per 30' centrifugato

a 20.000 x g per 30' ed in surnatante eliminato. Il pellet così ottenuto viene risospeso in etanolo (75%) per la fase di analisi o conservato a -20°C. Viene quindi effettuata la quantificazione dell'RNA ottenuto tramite lettura a diverse bande come  $\lambda = 230, 260$  e 280. Per la fase successiva di sintesi del cDNA vengono prelevati 0,1 g di RNA totale ed incubato a 70° C per 5' con appropriate quantità di oligoTprimers. Successivamente vengono aggiunti in rapida sequenza: il tampone di reazione, il mix di desossiribonucleotidi trifosfato (dNTP), acqua deionizzata nuclease free, RevertAid M-MuLV Reverse Transcriptase<sup>®</sup>. Viene quindi impostato il seguente ciclo termico di PCR:

- 1 Incubazione della miscela a 37°C per favorire l'annealing degli oligo(d)T;
- 2 incubazione at 40°C per 40-60';
- 3 Incubazione a 50°C per 20';
- 4 interruzione della reazione tramite riscaldamento at 70°C per 10';
- 5 raffreddamento;

Alla fine della reazione di amplificazione l'analisi dei risultati è stata operata attraverso il metodo comparativo cicli soglia. Dall'analisi delle curve di amplificazione vengono desunti i parametri fondamentali alla quantificazione delle molecole inizialmente presenti nel campione come: il ciclo soglia, la linea soglia di reazione.

L'efficienza della reazione di PCR viene valutata tramite i cambiamenti di espressione genica del campione sulla base di un controllo esterno attraverso un campione di riferimento e un gene di riferimento (house-keeping) la cui espressione mantiene gli stessi livelli indipendentemente da variazioni ambientali (Livak e Schmittingen, 2001).

#### **2.2.4.2 Idrocarburi Alifatici e Idrocarburi Policiclici Aromatici**

Nell'ambito degli **Idrocarburi Alifatici** (IA), in ambiente marino si formano in prevalenza alcani e alcheni a catena lineare o ramificata con una limitata complessità (idrocarburi isoprenoidi) e un intervallo di pesi molecolari relativamente ristretto. Fra gli n-alcani predominano il n-C15, il n-C17 e il n-C23, mentre fra gli n-alcheni il n-C21:6 (Clark e Blumer, 1967; Botello e Mandelli, 1978).

Il petrolio, d'origine fossile, contiene una miscela più complessa di idrocarburi con una più ampia varietà di strutture molecolari rispetto a quella degli idrocarburi biogenici. In esso vi sono infatti molte serie omologhe i cui membri adiacenti presentano un rapporto molto prossimo a uno. Inoltre, vi sono contenuti numerosi cicloalcani e aromatici, spesso con

molteplici ramificazioni, che non sono stati riportati per gli organismi (National Research Council, 1985).

Gli idrocarburi alifatici presi in considerazione in questo programma di monitoraggio sono quelli con un numero di atomi di carbonio superiore a 15, in quanto maggiormente rappresentativi di un possibile inquinamento da sostanze xenobiotiche.

Gli indici di distribuzione considerati sono:

- l'idrocarburo presente in maggiore concentrazione (major hydrocarbon, **MH**);
- il rapporto **LMW/HMW**, ovvero il rapporto tra la frazione di idrocarburi a basso peso molecolare (<n-C<sub>20</sub>) e la frazione ad alto peso molecolare (>n-C<sub>21</sub>): tale rapporto è circa uguale a 1 nei prodotti da petrolio, nelle alghe e nel plancton, mentre si abbassa in batteri, animali marini, piante superiori e sedimenti;
- il Carbon Preference Index (**CPI**), dato dal rapporto tra le n-paraffine a numero dispari di atomi di carbonio e quelle a numero pari di atomi di carbonio. Anche tale indice in prodotti derivanti dal petrolio presenta valori prossimi all'unità, mentre aumenta se sono presenti idrocarburi d'origine biologica. Questo è dovuto al fatto che molti organismi (batteri, alghe, piante superiori, ecc.) sintetizzano preferenzialmente idrocarburi a numero dispari di atomi di carbonio.

Gli **Idrocarburi Policiclici Aromatici** (IPA) sono una vasta classe di molecole organiche planari costituite da due o più anelli aromatici condensati, con due o più atomi di carbonio in comune. Si riconoscono più di cento tipi differenti di IPA, perché non solo può variare il numero di anelli condensati, ma anche la loro disposizione sterica. L'estrema eterogeneità è poi ulteriormente aumentata dalla presenza di anelli pentatomici e da sostituzioni nel sistema aromatico.

In base alle loro caratteristiche fisiche e chimiche gli IPA possono essere classificati in due gruppi:

- IPA a basso peso moleolare (128,2÷178,3 u.m.a.), caratterizzati dalla presenza di due o tre anelli aromatici; il più semplice tra questi è il Naftalene, formato da due anelli benzenici;
- IPA ad alto peso moleolare (202,2÷278,3 u.m.a.), contenenti più di tre anelli aromatici (es.: Benzo(a)Pirene e Benzo(a)Antracene).

Gli IPA sono composti che derivano da reazioni di combustione incompleta di materiale organico complesso ad elevate temperature (>500°C) e in condizioni riducenti. I principali processi responsabili della loro formazione sono fondamentalmente due: la pirolisi e la

pirosintesi. Il primo consiste nel cracking, ossia la frammentazione in molecole più semplici e instabili di idrocarburi ad alto peso molecolare; il secondo, invece, consiste nella ripolimerizzazione di idrocarburi a basso peso molecolare. Questi processi, responsabili del rilascio di IPA nell'ambiente, si originano sia attraverso fenomeni naturali, quali gli incendi boschivi ed eruzioni vulcaniche, che antropici. La maggior parte delle emissioni di questi inquinanti deriva comunque da innumerevoli fonti antropiche, piuttosto che da eventi naturali. Da notare che la maggior parte degli IPA viene liberata nel corso dei vari processi industriali come sostanze di scarto o sottoprodotti. Fanno eccezione gli IPA petrogenici, ossia costituenti naturali dei combustibili fossili, e alcuni IPA che vengono appositamente sintetizzati e utilizzati in medicina o per produrre coloranti, plastiche e pesticidi. A livello globale è stato stimato che circa 5000 t di Benzo(a)Pirene (BaP) sono annualmente scaricate nell'atmosfera.

Per valutare gli effetti che gli IPA possono produrre sugli organismi sono stati effettuati numerosi studi di laboratorio *in vitro* e *in vivo*. I disturbi maggiormente osservati comprendono ulcerazioni cutanee, distruzione di ghiandole sebacee, danni al sistema emopoietico e linfoide, embriotossicità, danni al materiale genetico fino all'insorgenza di neoplasie e tumori. Per quanto riguarda l'uomo, l'esposizione a queste sostanze può determinare una serie di gravi danni tossicologici a livello ematico, polmonare e al sistema immunitario (U.S. EPA, 1993). Tuttavia, l'effetto principale è certamente l'induzione di cancro. La ricerca scientifica ha dimostrato che gli IPA non sono di per sé agenti cancerogeni, ma lo sono alcuni derivati in cui essi vengono convertiti dall'organismo nel tentativo di renderli idrosolubili e quindi facilmente eliminabili attraverso l'urina e le feci.

Per stimare il rischio cancerogenico associato a un'esposizione a miscele di IPA sono stati introdotti dall'U.S. EPA i cosiddetti Relative Potency Factor (RPF), ovvero valori che indicano la potenzialità cancerogenica dei singoli IPA riferita al BaP.

In Tab. 2-VIII vengono riportati i valori di potenzialità cancerogena di alcuni tipi di IPA riconosciuti a livello internazionale come probabili, possibili o non cancerogeni dall'International Association for Research on Cancer (IARC).

A causa dei potenziali effetti a carico del sistema endocrino e riproduttivo degli organismi, alcuni di questi contaminanti vengono anche inclusi tra i distruttori endocrini. Negli ultimi anni, infatti, studi condotti su animali in laboratorio hanno evidenziato nel genere maschile un decremento della qualità dello sperma degli individui testati e, nel genere femminile, un

aumento del rischio di disfunzioni riproduttive conseguenti a rotture follicolari o degli oociti.

**Tab. 2-VIII** - Stima del potenziale Cancerogeno di alcuni IPA.

NOME	IARC (1)
Naftalene	3
Fluorene	3
Fenantrene	3
Antracene	3
Fluorantene	3
Pirene	3
Crisene	3
Benzo(a)Antracene	2A
Benzo(a)Pirene	2A
Benzo(b)Fluorantene	2B
Benzo(k)Fluorantene	2B
Dibenzo(ah)Antracene	2A
Benzo(ghi)Perilene	3
Indeno(1,2,3-cd)Pirene	2B

(1) Grado di cancerogenicità:  
 2A = probabile cancerogeno per l'uomo  
 2B = possibile cancerogeno per l'uomo  
 3 = non classificabile come cancerogeno per l'uomo.

La letteratura scientifica relativa riporta anche evidenze circa danni genetici negli organismi acquatici, come aberrazioni cromosomiche, mutazioni, rotture della doppia elica e formazioni di addotti [DNA-molecola] (Bolognesi *et al.*, 1999; 2004). Dal punto di vista biochimico, invece, viene imputato al sistema delle Monoossigenasi a funzione mista il principale meccanismo devoluto alla detossificazione di contaminanti ambientali di sintesi. In nucleo funzionale del sistema è rappresentato da una emoproteina, il citocromo P450, che attraverso reazioni di ossidazione rende reattivi i composti xenobiotici liposolubili inserendo nella molecola gruppi funzionali come -OH, -SH, -COOH. Tale attivazione rende possibile l'attacco del tossico da parte di altri enzimi e la conseguente eliminazione della sostanza dall'organismo. L'induzione di tali enzimi è stata riportata da Cajaraville *et al.*, (2000), mentre altri gruppi di ricerca hanno evidenziato un incremento del metabolismo e, conseguentemente, una diminuzione della sopravvivenza in aria (Eertmann *et al.*, 1993; Thomas *et al.*, 1999). Dal punto di vista istopatologico la presenza di IPA nell'ambiente acquatico causa ritardi nella maturazione delle gonadi, distrofia, alterazioni morfo-funzionali (Aarab *et al.*, 2004) e, in alcuni casi, la sterilità degli organismi.

**Esami di laboratorio** - Gli esemplari di mitilo sono stati scongelati e le parti molli sono state separate dalla conchiglia in modo tale da ottenere circa 50 g di peso umido per ciascun sito. Gli organismi, così suddivisi e selezionati, sono stati pesati in un contenitore di vetro senza coperchio, tarato in precedenza. Il contenitore è stato pulito con solventi (acetone, esano) e asciugato per evitare qualsiasi tipo di contaminazione. Successivamente, le parti molli in questi contenitori sono state liofilizzate fino a completa essiccazione (processo che avviene in circa 3-5 gg) e poi pesate.

Le analisi degli **IA** sono state condotte su 2  $\mu\text{l}$  di campione precedentemente estratto e purificato su colonnina di gel di silice e allumina. Il sistema impiegato è un GC-FID della Perkin Elmer (All. A5-VIII); l'iniezione è avvenuta tramite autocampionatore, mentre per la quantificazione si è proceduto al confronto delle aree sottese ai picchi prodotti da un'iniezione d'idrocarburi alifatici certificati e a concentrazione nota. La programmazione del gas-cromatografo è stata la seguente: la temperatura iniziale di 45°C è stata mantenuta per 3'; successivamente, con un gradiente di 12°C min<sup>-1</sup> sono stati raggiunti 275°C e mantenuti per 12'. Il flusso del carrier (He) è regolato a 15,5 ml min<sup>-1</sup>. La colonna utilizzata è una SOPB-5 Supelco 30m (All. A5-VIIIa) ( $\varnothing = 0,2$  mm; spessore del film interno: 0,2 mm).

Per quanto concerne invece la determinazione degli **IPA**, l'intero processo analitico è stato diviso in tre fasi distinte: estrazione e isolamento dei contaminanti dalla matrice, purificazione dell'estratto, determinazione analitica finale del composto.

I campioni di mitili liofilizzati (3 g) sono stati sottoposti ad una tecnica basata su estrazione in apparato Soxhlet (All. A5-IX) a 120°C per 8 h, evaporati a 50°C per la determinazione della Materia Organica Estratta (MOE) e successivamente ripresi e purificati su colonna allumina/gel di silice. La purificazione e la separazione degli estratti è stata effettuata su colonna di gel di silice e sodio solfato anidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (attivati a 130°C per 24 h). La colonna è stata eluita con 32 ml di esano, seguiti da 15 ml di una soluzione esano:diclorometano (1:1 v/v). Durante le analisi dei campioni sono state effettuate prove in bianco. La frazione contenente gli IPA è stata concentrata sotto blando flusso d'azoto per il raggiungimento di un volume finale di circa 0,5 ml, trasferita in acetonitrile e impiegata per la determinazione analitica degli IPA. La determinazione qualitativa e quantitativa degli IPA è avvenuta mediante cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC - High Performance Liquid Chromatography) con rivelatore a serie di fotodiodi (Waters® PDA 996) e con rivelatore a fluorescenza (Waters® 474 Scanning Fluorescence Detector)



in serie (All. A7-X). Per quanto riguarda le condizioni di corsa, la fase mobile iniziale è costituita da acetonitrile (40%) ed acqua (60%), fino al raggiungimento di un gradiente lineare al 100% di acetonitrile, ad una velocità di corsa di 1,5 ml min<sup>-1</sup> per 50'. È stata usata una colonna cromatografica Supelcosil LC-PAH HPLC (25 cm x 4,6 mm, 5 µm) (All. A5-Xa). Dal peso dell'estratto è stato ricavato anche il valore della MOE (Materia Organica Estratta).

La formula finale per il calcolo della concentrazione degli analiti è la seguente:

$$C \text{ (ng/l)} = \frac{\text{Area picco} \times \text{Conc Std} \times \text{vol finale}}{\text{Area picco Std} \times \text{g. Peso secco}}$$

Con area si intende l'area dei picchi risultati nel cromatogramma. Il risultato finale è espresso in ng g<sup>-1</sup> di tessuto liofilizzato.

Le rette di taratura sono state ottenute iniettando quattro soluzioni a concentrazione nota dello standard TLC Polynuclear Aromatic Hydrocarbon Mix (Supelco), contenente i 16 composti considerati inquinanti prioritari previsti dall'EPA: Naftalene, Acenaftilene, Acenaftene, Fluorene, Fenantrene, Antracene, Fluorantene, Pirene, Benzo(a)Antracene, Crisene, Benzo(b)Fluorantene, Benzo(k)Fluorantene, Benzo(a)Pirene, Dibenzo(a,h,)Antracene, Benzo(g,h,i,)Perilene e Indeno(1,2,3-c,d)Pirene.

### 2.2.4.3 Metalli pesanti

Alcuni metalli sono comunemente definiti "pesanti" in senso peggiorativo, in relazione alla presenza inquinante e alla tossicità piuttosto che in relazione al loro numero atomico. Tra i metalli con effetti tossici multipli sono da considerare arsenico, piombo e mercurio. Altri invece, pur risultando essenziali per gli organismi viventi, ad elevate concentrazioni hanno effetti tossici (cobalto, rame, ferro, manganese, molibdeno).

Nell'acqua di mare i metalli pesanti sono dei costituenti naturali presenti in basse concentrazioni (n-µg l<sup>-1</sup>) che possono però aumentare notevolmente per cause naturali o antropogeniche causando effetti negativi a livello sia di singoli organismi che di popolazione e comunità.

Il **mercurio** è l'unico metallo pesante liquido con elevata densità e tensione superficiale (bolle a 356,9°C e congela a -38,87°C). Per anni è stato un importante costituente di farmaci ed è tuttora utilizzato in strumenti di misura, lampadine, vernici. La sua tossicità è dovuta alle sue tre principali forme chimiche, ovvero ai vapori (mercurio elementare), ai

sali (monovalenti e bivalenti) e ai composti organici (composti alchilmercurici). Il mercurio è in grado, anche a basse concentrazioni, di inattivare i gruppi sulfidrilici di enzimi e peptidi e, quindi, di interferire con il metabolismo e le funzioni cellulari.

Il **rame** viene prelevato dall'ambiente esterno tramite svariati meccanismi di trasporto e, una volta superato il valore soglia all'interno delle cellule, esplica la sua azione tossica i cui effetti sono: blocco di gruppi funzionali di molecole di importanza biologica, come enzimi e sistemi di trasporto per ioni e nutrienti essenziali; sostituzione di ioni metallici alle biomolecole; modifiche conformazionali, denaturazione e inattivazione di enzimi; perdita dell'integrità delle membrane plastiche e degli organuli. Il rame, cofattore di molte ossidasi, è un attivatore di polifenoloossidasi, ascorbico ossidasi, diammina ossidasi e tirosinasi e crea condizioni ossidanti che inducono la produzione di radicali liberi. Questo catione bivalente può dunque provocare stress ossidativo catalizzando la formazione di radicali ossigeno che causano la degradazione per perossidazione degli acidi grassi poliinsaturi di membrana aumentandone la permeabilità. Si deve osservare tuttavia che, in talune situazioni, esso stimola gli enzimi che proteggono le cellule riducendo il contenuto di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ovvero catalasi ed ascorbico perossidasi.

In biologia il **nichel** è contenuto in enzimi del tipo idrogenasi, in aggiunta agli aggregati ferro-zolfo. I siti nichel in queste idrogenasi hanno il compito di ossidarsi piuttosto che di sviluppare idrogeno: sembra che il sito nichel cambi il suo stato di ossidazione durante l'azione dell'enzima e vi sono prove che sostengono l'ipotesi che i centri nichel siano i reali siti attivi di questa classe di enzimi. Un coenzima nichel-tetrapirrolo, il Co-F430, è presente nella metil-CoM-riduttasi e nei batteri metanogeni. Il tetrapirrolo è un intermedio nella struttura fra porfirina e corrina. Di recente sono state osservate variazioni sia nello stato di ossidazione che nel tipo di coordinazione del nichel all'interno di tale enzima. L'esposizione al nichel metallico e ai suoi sali solubili è considerata cancerogena.

L'utilizzo industriale del **cadmio** in campo meccanico nella produzione di pigmenti, leghe e batterie ha dato luogo a un notevole incremento di questo elemento nell'ambiente. Si calcola che l'apporto di origine antropica sia circa 20 volte superiore rispetto a quello naturale. Una delle caratteristiche fondamentali della tossicità del cadmio è che quasi tutto il metallo assorbito nel corso dell'intera esistenza viene accumulato nell'organismo. Infatti, è stato calcolato che il periodo di dimezzamento biologico è superiore a 50 anni. Provoca effetti dannosi di natura anche cancerogena su vari organi e tessuti.

Il **piombo** è probabilmente il metallo tossico più diffuso nell'ambiente e la sua presenza in

natura è in gran parte dovuta alle attività antropiche. Fonte principale è la combustione delle benzine da autotrazione dove il piombo è presente negli additivi antidetonanti, ma notevole è anche l'apporto dovuto alle fonderie e alla combustione del carbone. La tossicità del piombo è dovuta all'affinità dimostrata nei confronti dei gruppi sulfidrilici delle proteine.

L'**arsenico** è uno degli elementi più tossici esistenti. L'esposizione ad arsenico inorganico può causare vari effetti sulla fisiologia degli organismi quali l'irritazione dell'apparato digestivo, produzione ridotta di globuli rossi e bianchi del sangue, ecc. Si ipotizza che l'assorbimento di quantità specifiche di arsenico inorganico possa intensificare le probabilità di sviluppo del cancro. Un'esposizione ad arsenico inorganico può causare danni irreversibili alle gonadi nonché effetti genotossici.

**Meccanismi di assunzione dei metalli** - L'esposizione degli organismi ai metalli dipende dal loro habitat. I filtratori e gli organismi planctonici assumono i metalli pesanti allo stato disciolto o particolato; i detritivori e la meiofauna, invece, ingeriscono particelle di sedimento e l'acqua interstiziale con i metalli che vi sono associati. Nei molluschi bivalvi il processo di assunzione dei metalli in forma ionica avviene per diffusione passiva, in modo direttamente proporzionale alla concentrazione del metallo presente nell'acqua. Nei mammiferi e nei pesci Hg, Cu, e Zn sono introdotti tramite un meccanismo di trasporto attivo mediato da carriers. Per quanto riguarda l'assunzione del Cd, è stata ipotizzata la presenza di un Cd carrier nella membrana plasmatica della branchia (Viarengo, 1985). È stato inoltre proposto che il complesso [Metallo-Cd] (dove "metallo" deve essere inteso come proteina transmembrana o carrier proteico intra-citosolico quando il complesso "metallotioneina" è all'interno della cellula) possa attraversare la membrana per semplice diffusione come un composto lipofilo (Simkiss e Schmidt, 1988). Nel caso dell' $\text{Hg}^{2+}$ , invece, l'assunzione potrebbe avvenire in seguito alla formazione di un composto planare lipofilo in grado di attraversare la membrana plasmatica mediante un processo di diffusione passiva.

Un altro meccanismo importante è l'assunzione dei metalli tramite il cibo: i molluschi bivalvi filtrano particelle tra 10 e 25  $\mu\text{m}$ , di cui è trattenuto circa il 70%, e la capacità di ingestione è largamente determinata dall'indice di filtrazione sul quale influiscono le tensioni dell'ossigeno, la salinità, la materia sospesa, lo stato fisiologico, ecc.

L'assunzione di un metallo pesante può avvenire anche per endocitosi di particelle alimentari, un processo che richiede energia a spese dell'ATP (George e Viarengo, 1985).

Le vescicole di endocitosi si fondono con i lisosomi primari per formare eterofagolisosomi nei quali è degradata la componente organica. In questo modo il metallo è in parte disponibile per la cellula e in parte legato a materiale indigerito che rimane nel sistema vacuolare lisosomiale e che viene infine eliminato dalla cellula attraverso l'esocitosi dei corpi residui. La distribuzione cellulare del metallo è così molto variabile, in quanto dipende dalle caratteristiche con cui viene sequestrato nei lisosomi, ed è spesso in relazione alla formazione e all'accumulo delle lipofuscine (composti lipoproteici derivanti dai processi di perossidazione lipidica) che può variare da un tipo di cellula ad un altro. I meccanismi di assunzione e di distribuzione cellulare dei metalli possono dipendere dalle condizioni di esposizione al metallo degli animali, dalle caratteristiche fisiologiche dell'organismo (ossia sesso, età, periodo riproduttivo, taglia) o dalle condizioni dell'ambiente, quali temperatura, salinità, ecc.

**Effetti dei metalli pesanti sui sistemi biologici** - Le cellule degli organismi contaminati dai metalli pesanti subiscono alterazioni fisiologiche e metaboliche riguardanti le funzioni mitocondriali, il trasporto di membrana, la stabilità lisosomiale, la trascrizione e la traduzione di materiale genetico (Viarengo *et al.*, 1985).

Ulteriori studi condotti in vivo sulle branchie di *M. galloprovincialis* hanno portato alla conclusione che i metalli pesanti provocano un'alterazione delle membrane cellulari (Viarengo, 1989). In particolare, l'esposizione a concentrazioni subletali di  $\text{Cu}^{2+}$  stimola la perossidazione dei lipidi di membrana e ciò è dimostrato da un aumento della concentrazione di malondialdeide (MDA). Il rame risulta così coinvolto in una serie di reazioni redox che portano alla produzione di idrossiradicali o, nel caso di idroperossidi organici, di perossiradicali e ossiradicali. E' quindi evidente che il rame innesca una serie di reazioni a catena con formazione di radicali che portano alla degradazione delle membrane biologiche.

Inoltre, i metalli pesanti possono reagire con composti organici (alcani, alcheni, idrossialcheni, chetoni) risultando estremamente tossici per la cellula a causa della loro alta affinità per i gruppi tiolici e amminici di peptidi, enzimi e proteine.

Un altro effetto tossico dei cationi metallici si determina nel nucleo, con alterazione del metabolismo e del materiale genetico in esso contenuto. E' stato infatti dimostrato che il mercurio, accumulandosi nel nucleo, potrebbe in qualche modo interferire nell'associazione fra la DNA polimerasi e la cromatina (Accomando *et al.*, 1990).

Le cellule, però, riescono a sopperire per un certo tempo alle intossicazioni di metalli

pesanti in quanto essi stimolano la sintesi di specifici mRNA che codificano per particolari proteine (metallotioneine) in grado di diminuirne la tossicità (Viarengo, 1989). Oltre a queste proteine esistono altri meccanismi in grado di prevenire un'intossicazione e di detossificare la cellula. Uno di questi prevede l'utilizzo del glutatione (GSH), una molecola con gruppi -SH più affini ai metalli rispetto a quelli delle proteine.

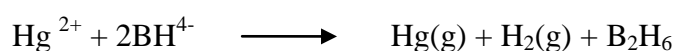
**Esami di laboratorio** - Relativamente all'estrazione dei metalli in traccia, due aliquote di circa 2,5 g di campione liofilizzato per ogni sito di prelievo (ricavato da mitili di taglia compresa tra 44 e 46 mm) sono state mineralizzate a riflusso con 30 ml di acido nitrico concentrato. I campioni, posti in un apposito pallone da 250 ml, sono stati sottoposti a digestione a freddo per 20-30' e portati ad ebollizione per circa 2 h in forno a microonde *ETHOS 900*<sup>®</sup> della *Milestone* (All. A5-VI). La mineralizzazione è stata eseguita secondo la procedura ICRAM (Cicero e Girolamo, 2001).

Le soluzioni risultanti sono state filtrate attraverso un filtro di cellulosa e portate a un volume di 100 ml con acqua MilliQ. Un simile procedimento è stato effettuato anche con un'uguale quantità di acido per ottenere il bianco da sottrarre ai valori dei campioni ottenuti per via strumentale.

La determinazione strumentale di **cadmio, cromo, nichel, rame e piombo** è avvenuta mediante spettrofotometria di assorbimento atomico in fornello di grafite (*GF-AAS*), una tecnica molto sensibile per la determinazione di questi elementi generalmente presenti in concentrazioni minori. Come gas di trasporto è stato utilizzato l'argon. Per le analisi ci si è avvalsi di uno spettrofotometro ad assorbimento atomico *AAnalyst 700*<sup>®</sup> della Perkin Elmer in configurazione Autosampler AS40<sup>®</sup> – Mercuriy/Hydride System MHS-10<sup>®</sup> (All. A5-VII).

Lo **zinco** è stato analizzato direttamente in fiamma aria-acetilene (*F-AAS*) con lo stesso strumento e quantificato da una curva di calibrazione costruita da concentrazioni note dell'elemento. La temperatura della fiamma a cui avviene l'atomizzazione è di 2300°C.

Il **mercurio** è stato determinato mediante analisi dei vapori ottenuti per riduzione a freddo con NaBH<sub>4</sub> (*HG-AAS*) secondo la seguente reazione:



I campioni sono stati pre-trattati con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e K<sub>2</sub>MnO<sub>4</sub> in modo da ossidare la sostanza organica. La reazione con NaBH<sub>4</sub> riduce il mercurio presente in forma ionica a mercurio metallico il quale, assieme all'idrogeno gassoso liberato dalla reazione, viene trasportato

dal flusso di gas inerte nella cella al quarzo dove è stata misurata la sua assorbanza tramite il *Flow Injection Mercury System FIMS 400*<sup>®</sup> della Perkin-Elmer (All. A5-VIIa ). Per evitare assorbimenti di tipo molecolare, nelle analisi che richiedono lunghezze d'onda nella zona dell'ultravioletto è stato impiegato il correttore di fondo al deuterio.

La metodica seguita per la determinazione di Hg, Cr, Cd e Pb è quella delle aggiunte, secondo la quale aliquote uguali di standard sono state addizionate ai campioni al fine di misurare l'assorbanza delle soluzioni così ottenute e calcolare il valore della concentrazione. Il dosaggio dell'**arsenico** è stato ottenuto in HG-AAS utilizzando il *Flow Injection Analysis System FIAS 400*<sup>®</sup> di Perkin Elmer con lettura in GF-AAS e correttore di fondo Zeeman, *4100 ZL*, Perkin-Elmer (All. A5-VIIb).

Le condizioni operative per i metalli analizzati sono riportate in Tab. 2-IX:

**Tab. 2-IX** – Condizioni operative per i metalli oggetto di indagine.

Metodo	Metalli	Lungh. Onda	Tecnica	Concentrazione
F-AAS	Cu	324,8 nm	Concentrazione	$\frac{(C-B)*V*F}{P}$
F-AAS	Zn	213,9 nm	Concentrazione	
GF-AAS	Cr	357,9 nm	metodo delle aggiunte	$\frac{A*Cst*Vst}{V*(Ast-A)}$
GF-AAS	Cd	228,8 nm	metodo delle aggiunte	
GF-AAS	Pb	283,3 nm	metodo delle aggiunte	
HG-AAS	Hg	253,7 nm	metodo delle aggiunte	

dove: A = assorbanza del campione; Ast = assorbanza del campione più standard;  
 Cst = concentrazione dello standard (ngg<sup>-1</sup>); V = volume del campione (µl);  
 Vst = volume dello standard (µl); C = concentrazione dell'analita (µg g<sup>-1</sup>);  
 B = concentrazione del bianco (µg g<sup>-1</sup>); V = volume del bianco (ml);  
 P = peso del liofilizzato (g); F = fattore di diluizione.

## 2.2.5. INDAGINI SULLA COMUNITÀ BENTONICA

Durante le analisi di laboratorio le sei repliche prelevate su ciascuna stazione in ogni campionamento sono state trattate separatamente. Il sorting è stato compiuto con l'ausilio di uno stereomicroscopio e di un microscopio ottico (All. A3-III e A3-IV) e l'identificazione degli organismi è stata effettuata al più basso livello sistematico possibile. Gli individui appartenenti allo stesso gruppo sono stati contati e pesati (All. A3-V) e i valori ottenuti sono stati rapportati ad una superficie di 0,095 m<sup>2</sup> che, come già detto, corrisponde all'area di apertura della benna e, quindi, alla superficie di sedimento investigata dallo strumento.

I valori così ottenuti sono stati utilizzati per calcolare i seguenti indici medi:

<u>Abbondanza (N):</u>	$N \text{ ind } 0,095 \text{ m}^{-2}$
<u>Indice di Dominanza (D; May, 1975):</u>	$D = n_i N^{-1}$
dove $n_i$ = numero di individui della specie $i$ -esima; $N$ = numero totale di individui.	
<u>Ricchezza specifica totale (S; Pielou, 1974):</u>	<i>Numero totale di specie presenti nelle sei repliche</i>
<u>Ricchezza specifica media (<math>S_m</math>):</u>	<i>Numero medio di specie presenti nelle sei repliche</i>
<u>Diversità specifica di Shannon-Weaver (<math>H'</math>):</u>	$H' = -\sum p_i \cdot \text{Log } p_i$
dove: $p_i$ = frequenza numerica della specie $i$ -esima rispetto al totale degli individui (Pielou, 1974).	

Le affinità biocenotiche o le preferenze ecologiche (Pérès e Picard, 1964; Bellan Santini e Ledoyer, 1972; Amouroux, 1974; Gamulin-Brida, 1974; Bourcier *et al.*, 1979; Bellan *et al.*, 1980; 2002; Nodot *et al.*, 1984; Gambi e Giangrande, 1985; Salen-Picard, 1985; Crema e Castelli, 1991; Augier, 1992; Poppe e Goto, 1991; 1993; Cantone *et al.*, 1992; Bianchi *et al.*, 1993; Rinelli e Spanò, 1997; Chimenz Gusso *et al.*, 2001; Politou *et al.*, 2005; Serrano *et al.*, 2006) sono state ricercate per tutti i taxa determinati a livello di specie.

Per confrontare i dati pregressi con quelli relativi al monitoraggio condotto nell'inverno 2010 è stata applicata un'analisi statistica multivariata (MultiDimensional Scaling; MDS) ai dati di densità delle singole specie rinvenute nell'intero periodo di indagine utilizzando il pacchetto software PRIMER (Clarke e Warwick, 2001). Quest'analisi è basata su una matrice di similarità di Bray-Curtis calcolata sui dati di abbondanza trasformati in  $\sqrt[2]{}$  per ridurre il contributo delle specie rare.

Inoltre, per valutare se i lavori di installazione e perforazione e la presenza della piattaforma abbiano determinato uno stress nella comunità bentonica, sono state costruite le curve ABC (Abundance/Biomass Comparison; Warwick, 1986; Warwick *et al.*, 1987) per le varie stazioni di campionamento. Tali curve si basano sui dati di abbondanza numerica e biomassa e sul presupposto che in aree stabili è favorita la presenza di specie con una "strategia di tipo K", con un ciclo vitale lungo, grandi dimensioni corporee degli individui adulti, raramente dominanti numericamente, ma dominanti in termini di biomassa. Al contrario, nelle comunità disturbate, viene favorita la presenza di specie con "strategia di tipo r", dette anche opportunistiche, caratterizzate da un ciclo vitale breve e piccola taglia corporea, che risultano dominanti numericamente (Pianka, 1970). Le

suddette curve sono descritte mediante l'indice W (Clarke e Warwick, 2001):

$$\sum_i^S (B_i - A_i) / [50 (S - 1)]$$

dove:  $B_i$  e  $A_i$  = biomassa e abbondanza della specie  $i$ -esima;  $S$  = Ricchezza specifica totale.

Questo indice oscilla da -1 a +1, indicando nel primo caso la presenza di una comunità fortemente disturbata e nel secondo la presenza di un ambiente non perturbato.

#### 2.2.6. INDAGINI SULLA COMUNITÀ ITTICA

In laboratorio tutti gli individui delle specie presenti nelle catture sono stati determinati dal punto di vista sistematico secondo Whitehead *et al.* (1986) per le specie ittiche e Fischer *et al.* (1987) per crostacei e molluschi. Inoltre, su ciascun esemplare sono stati rilevati i seguenti parametri morfometrici:

- lunghezza totale (pesci; al ½ cm inferiore);
- lunghezza del mantello (molluschi cefalopodi; al ½ cm inferiore);
- lunghezza del carapace (crostacei; al mm inferiore);
- peso fresco (al g inferiore).

Per *Sardina pilchardus* e *Engraulis encrasicolus* sono stati rilevati solo numero e peso complessivo.

Le varie specie ittiche sono state suddivise in pelagiche (P), necto-bentoniche (NB) e bentoniche (B). Inoltre, per comprendere meglio l'influenza della piattaforma Tea sulla fauna originaria, ciascuna specie è stata definita come “attratta” (AT), “parzialmente attratta” (PA) o “non attratta” (NA) in base alla sua affinità con i substrati duri, naturali o artificiali (Bombace *et al.*, 1994).

Poiché la permanenza in mare degli attrezzi variava nelle diverse stagioni e a volte le reti potevano subire danni a causa delle cattive condizioni meteo-marine o del passaggio di motopescherecci che effettuano la pesca a traino, i dati di cattura delle singole specie sono stati standardizzati come numero e peso di individui catturati con 500 m di rete in 12 h.

Per le tre zone (piattaforma e due controlli) sono state calcolate sia la Ricchezza Specifica totale ( $S_{tot}$ ), ovvero il numero totale di specie rilevate in tutto il periodo di survey, sia la Ricchezza Specifica per cala ( $S$ ), come numero di specie catturate in ogni campionamento. Per ogni campionamento e per ciascuno dei tre siti è stato inoltre calcolato l'indice di Diversità specifica di Shannon-Weaver, per la cui definizione si rimanda al Capitolo



precedente.

Per ciascun sito e campionamento, i rendimenti di pesca sono stati calcolati sia in termini numerici (n. ind/500m/12h) che ponderali (kg/500m/12h).

Al fine di comparare i risultati ottenuti per i suddetti indici nei tre siti, data la bassa numerosità campionaria è stato utilizzato un t-test per campioni indipendenti. Prima di effettuare questa analisi sono state valutate le assunzioni di normalità distributiva dei dati ed eguaglianze delle varianze rispettivamente con i test di Kolmogorov-Smirnov e di Levene (Zar, 1984).

### 3. RISULTATI

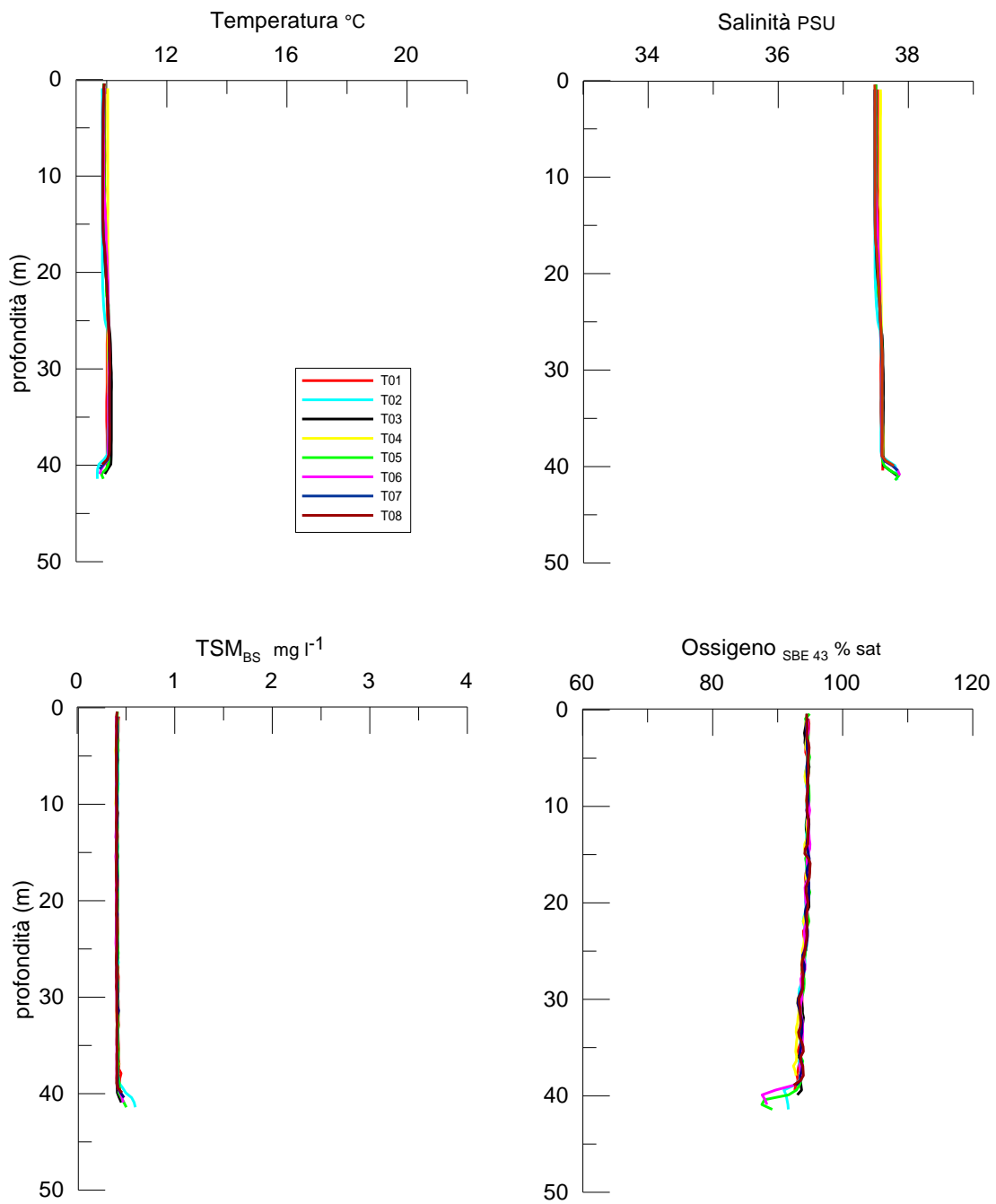
#### 3.1. INDAGINI IDROLOGICHE

##### 3.1.1. TEMPERATURA, SALINITÀ, TORBIDITÀ, OSSIGENO DISCIOLTO

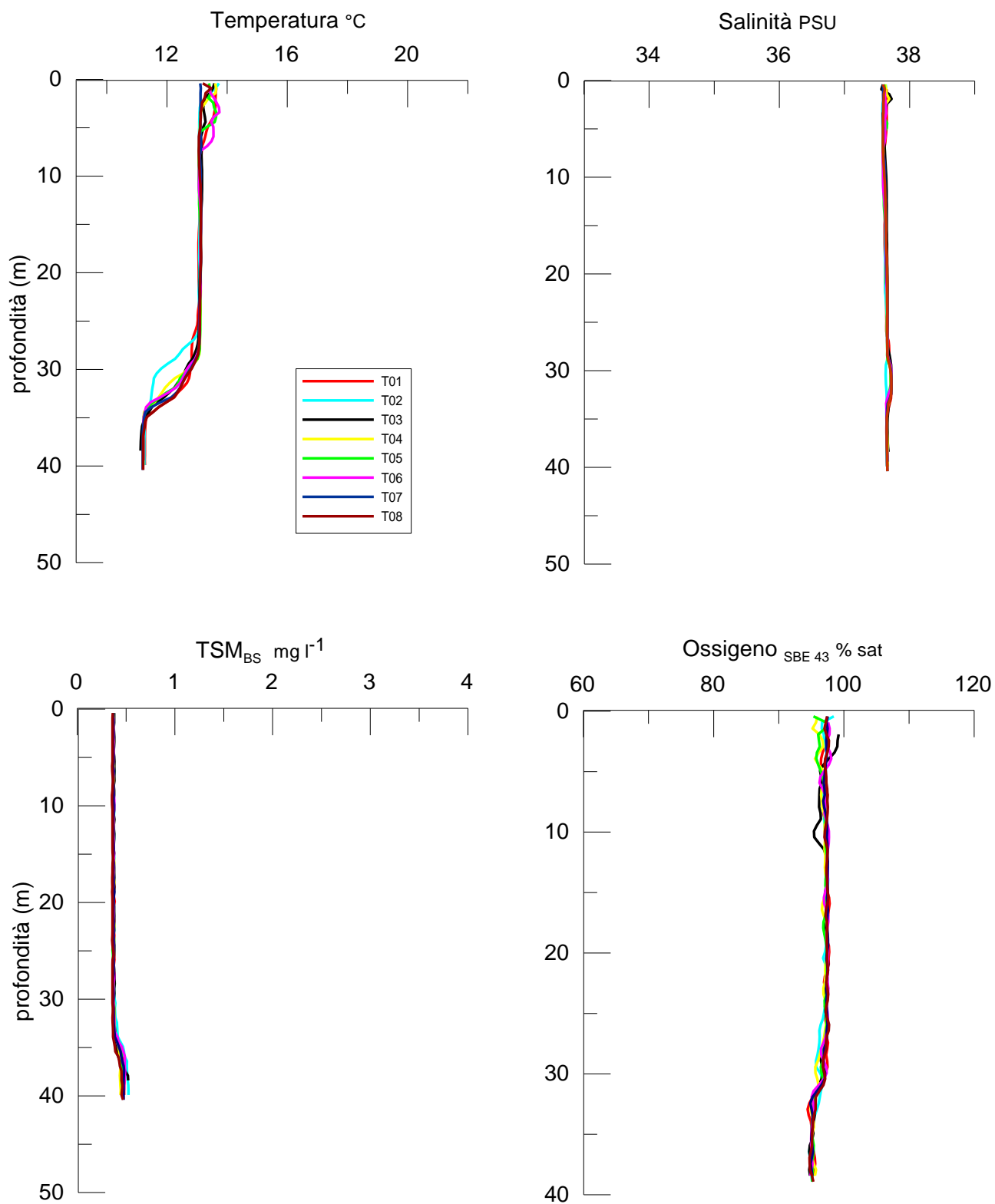
Nel monitoraggio condotto nel **febbraio 2010** (fig. 3.1) è stata osservata una colonna d'acqua completamente rimescolata, con valori di temperatura intorno a 10°C dalla superficie al fondo. Anche la salinità ha presentato valori costanti su tutto il profilo di registrazione (~ 37,6 psu) così come la torbidità (0,4 mg l<sup>-1</sup>) e l'ossigeno disciolto (94%).

Ad **aprile** (fig. 3.2) le caratteristiche della colonna d'acqua sono risultate leggermente cambiate rispetto il monitoraggio precedente; è stata infatti registrata una temperatura di 13,2°C nei primi 28 m della colonna d'acqua che si è ridotta al di sotto di tale quota raggiungendo 12°C circa dai 35 ai 40 m di profondità. La salinità è risultata omogenea fino al fondo, mantenendo gli stessi valori registrati nel monitoraggio precedente. La torbidità è risultata ancora bassa (0,4 mg l<sup>-1</sup>) su tutta la colonna d'acqua, con un leggero aumento sul fondo, mentre l'ossigeno ha mostrato un lieve incremento rispetto a febbraio (97% di saturazione).

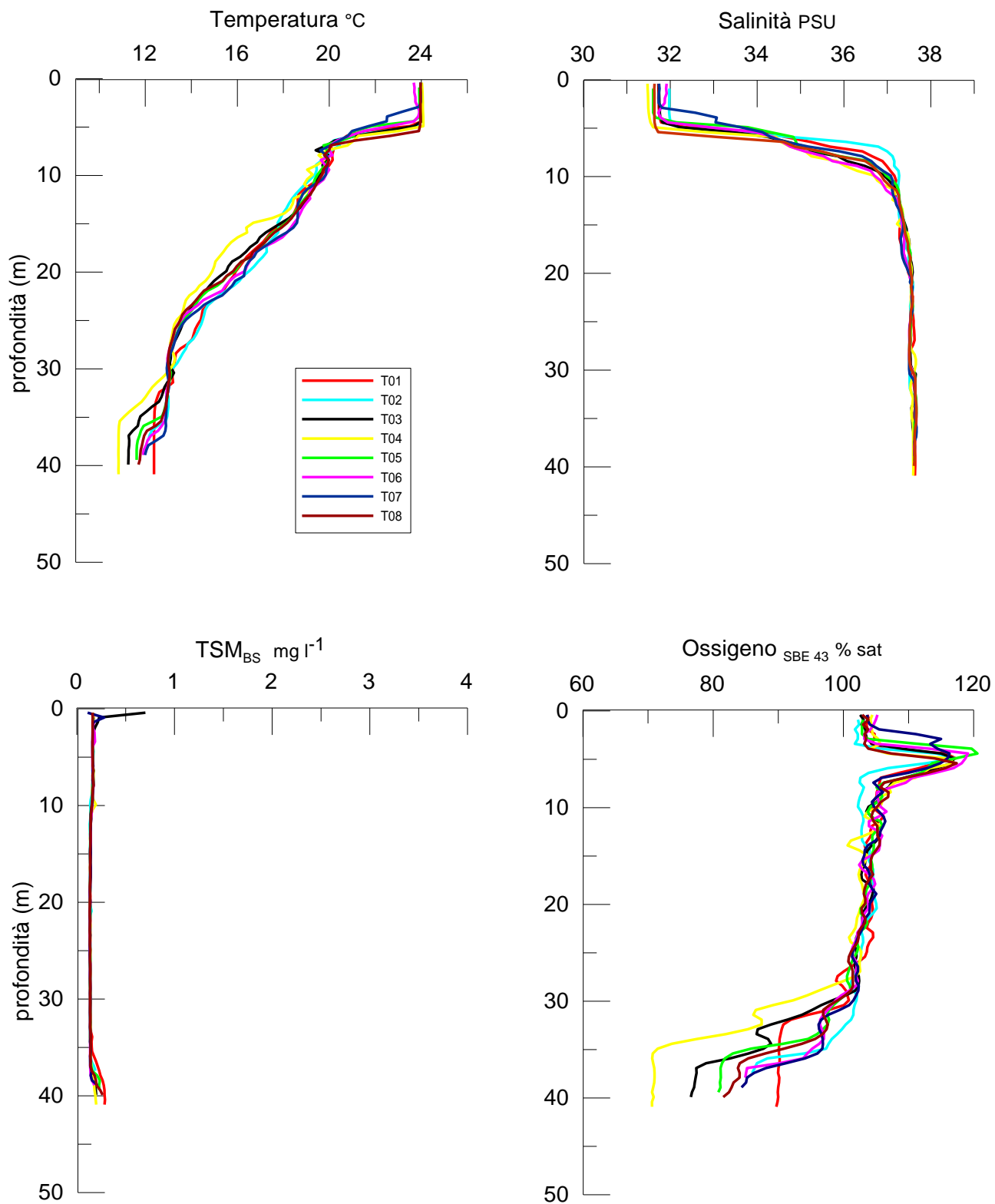
I risultati ottenuti a **giugno** (fig. 3.3) hanno mostrato un'evidente formazione del termoclino. La temperatura fino a 5 m di profondità è risultata intorno a 24°C; dopo un brusco decremento subito al di sotto di questa quota (20°C) è poi diminuita gradualmente arrivando a 12°C sul fondo. La salinità ha presentato valori intorno a 32 psu nei primi 5 m, bruscamente aumentati a 37,6 psu intorno ai 10 m; non sono stati evidenziati ulteriori cambiamenti sino al fondo. I valori di torbidità sono risultati ancora più bassi su tutta la colonna d'acqua rispetto ai mesi precedenti (0,2 mg l<sup>-1</sup>), mentre l'ossigeno ha mostrato un leggero aumento rispetto al campionamento precedente, con valori intorno al 100% di saturazione e un picco del 120% in corrispondenza del termoclino e aloclino (5 m di profondità). Al di sotto dei 30 m si è osservato un decremento della saturazione che ha raggiunto dal 70% al 90% nelle diverse stazioni sul fondo.



**Fig. 3.1** - Profili di temperatura (°C), salinità (PSU), Total Suspended Matter (TSM; mg l<sup>-1</sup>) e saturazione di ossigeno (%). **Febbraio 2010.**



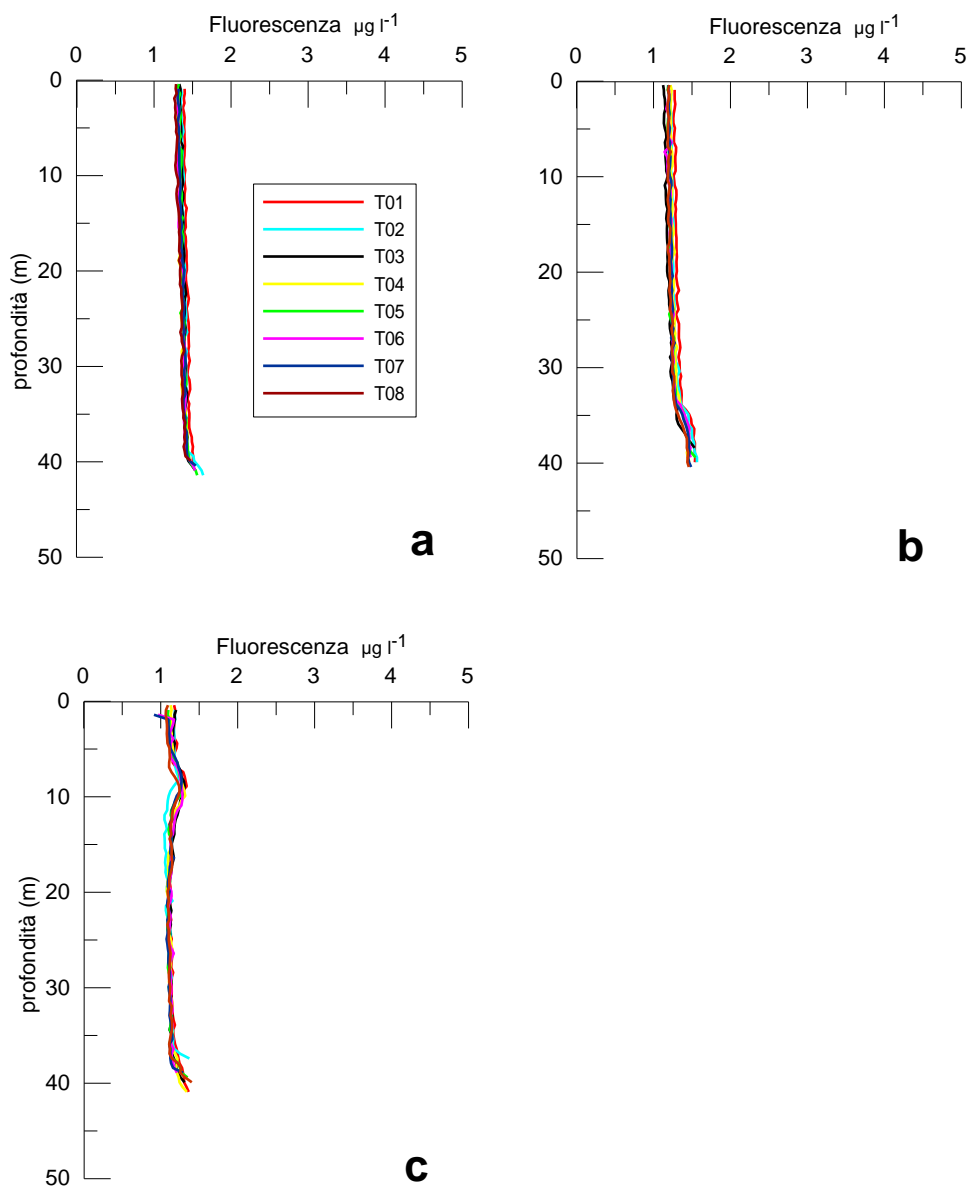
**Fig. 3.2** - Profili di temperatura (°C), salinità (PSU), Total Suspended Matter (TSM; mg l<sup>-1</sup>) e saturazione di ossigeno (%). **Aprile 2010.**



**Fig. 3.3-** Profili di temperatura (°C), salinità (PSU), total suspended matter (TSM; mg l<sup>-1</sup>) e saturazione di ossigeno (%). **Giugno 2010.**

### 3.1.2. FLUORESCENZA

Le concentrazioni di clorofilla *a*, misurate come fluorescenza indotta (fig. 3.4), hanno presentato un andamento omogeneo lungo tutta la colonna d'acqua, in tutte le stazioni e in tutte le tre campagne di misura, con valori intorno a 1-1,3  $\mu\text{g l}^{-1}$ , con un lieve incremento sul fondo. Nel profilo di fluorescenza misurato a giugno si è osservato un leggero aumento della clorofilla *a* intorno agli 8-10 m, poco al di sotto del termocline e dell'alocline.



**Fig. 3.4** - Profili di fluorescenza ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) registrati nei monitoraggi condotti a **febbraio** (a), **aprile** (b) e **giugno 2010** (c).

### 3.1.3. SALI NUTRITIVI

Per la caratterizzazione dello stato trofico della colonna d'acqua si sono analizzati i nitrati, i nitriti, l'ammonio, gli ortofosfati e gli ortosilicati.

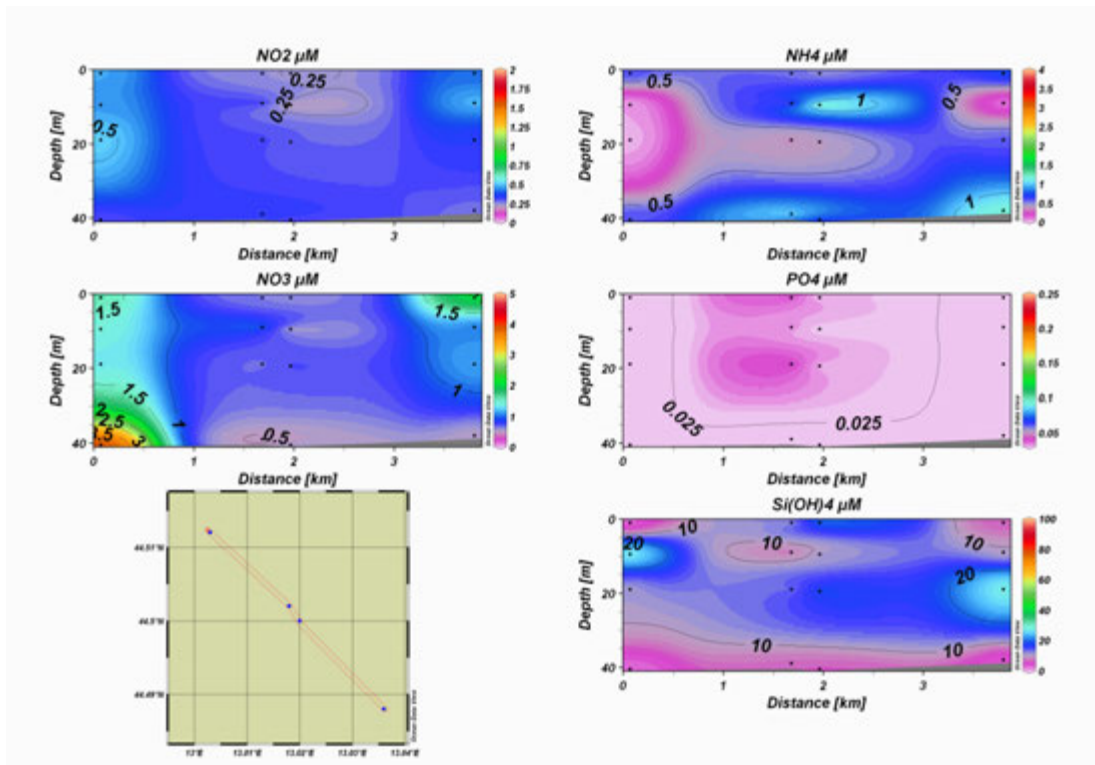
Nel **febbraio 2010** (figg. 3.5a e 3.5b) i nitriti hanno mostrato concentrazioni comprese tra  $0,08 \mu\text{mol l}^{-1}$  (stazione T02, quota dei 10 m) e  $1,77 \mu\text{mol l}^{-1}$  (stazione T05, quota dei 10 m). Le concentrazioni dei nitrati sono apparse variabili. Il minimo ( $0,02 \mu\text{mol l}^{-1}$ ) è stato registrato a 10 m nella stazione T07 e il massimo ( $4,79 \mu\text{mol l}^{-1}$ ) alla stessa quota della stazione T05. L'ammonio è risultato generalmente più abbondante alle quote sub-superficiali e di fondo. Il minimo ( $0,02 \mu\text{mol l}^{-1}$ ) è stato registrato in più stazioni, il massimo ( $1,91 \mu\text{mol l}^{-1}$ ) nella stazione T02 (quota dei 10 m). Gli ortofosfati hanno presentato concentrazioni scarse e comprese tra  $0,02 \mu\text{mol l}^{-1}$  (in più stazioni) e  $0,08 \mu\text{mol l}^{-1}$  (T03, fondo). Gli ortosilicati sono apparsi piuttosto variabili, variando tra  $1,48 \mu\text{mol l}^{-1}$  (T05, superficie) e due massimi di  $30,03 \mu\text{mol l}^{-1}$  (T06, 20 m) e  $30,05 \mu\text{mol l}^{-1}$  (T08, 10 m).

Ad **aprile** (figg. 3.6a e 3.6b) si è osservato un abbassamento delle concentrazioni di nitriti e nitrati su tutta la colonna. I primi variavano tra  $0,02 \mu\text{M}$ , registrato in più stazioni, e  $0,30 \mu\text{mol l}^{-1}$  (T04, fondo). I nitrati sono risultati compresi tra  $0,02 \mu\text{mol l}^{-1}$  (in più stazioni) e  $0,90 \mu\text{mol l}^{-1}$  (T08, superficie). Le concentrazioni dell'ammonio sono apparse leggermente superiori rispetto a febbraio. Il massimo di  $2,63 \mu\text{mol l}^{-1}$  è stato registrato nella stazione T04 alla quota dei 30 m. Il minimo ( $0,02 \mu\text{mol l}^{-1}$ ) è stato invece raggiunto sul fondo della T06. Gli ortofosfati sono risultati scarsissimi, con valori prossimi al limite di rivelabilità strumentale ( $0,03 \mu\text{mol l}^{-1}$ ) in quasi tutta l'area indagata; il massimo ( $0,08 \mu\text{mol l}^{-1}$ ) è stato osservato nella stazione T02 (30 m). Anche gli ortosilicati hanno mostrato concentrazioni più basse rispetto a febbraio. Il range di valori oscillava tra un minimo di  $0,89 \mu\text{mol l}^{-1}$ , registrato alla quota di superficie della stazione T08, e un massimo di  $11,34 \mu\text{mol l}^{-1}$  (T01, fondo).

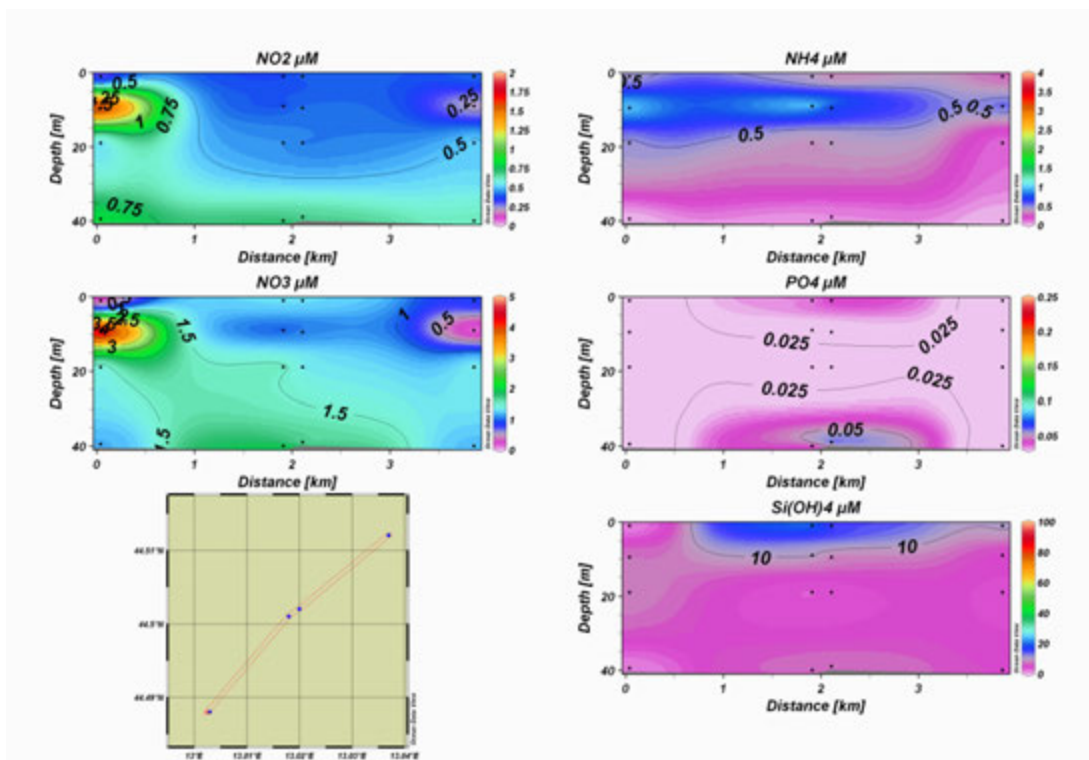
A **giugno** (figg. 3.7a e 3.7b) i nitriti hanno continuato a mostrare valori bassi in tutta l'area. Le loro concentrazioni oscillavano infatti tra  $0,02 \mu\text{mol l}^{-1}$  (in più stazioni) e  $0,25 \mu\text{mol l}^{-1}$  (T08, fondo). I nitrati hanno mostrato una stratificazione orizzontale evidente, con concentrazioni più elevate in superficie. Il picco ( $6,39 \mu\text{mol l}^{-1}$ ) è stato registrato nella stazione T05 in superficie. Concentrazioni basse, comprese tra  $0,02 \mu\text{mol l}^{-1}$  e  $0,2 \mu\text{mol l}^{-1}$ , sono state osservate in più stazioni. L'ammonio è apparso variabile in tutta l'area, essendo compreso tra  $0,05 \mu\text{mol l}^{-1}$  (T07, superficie) e  $3,09 \mu\text{mol l}^{-1}$  (T05, 10 m). Gli ortofosfati

sono risultati più abbondanti rispetto ad aprile oscillando tra  $0,03 \mu\text{mol l}^{-1}$  (in più stazioni) e  $0,18 \mu\text{mol l}^{-1}$  (T04, 20 m). Le concentrazioni degli ortosilicati hanno invece continuato a essere basse come nel periodo precedente, mostrando tendenzialmente valori di poco più elevati alle quote superficiale e di fondo. Le concentrazioni sono variate tra  $0,52 \mu\text{mol l}^{-1}$  (T08, 10 m) e  $19,02 \mu\text{mol l}^{-1}$  alla quota superficiale della stazione T03.

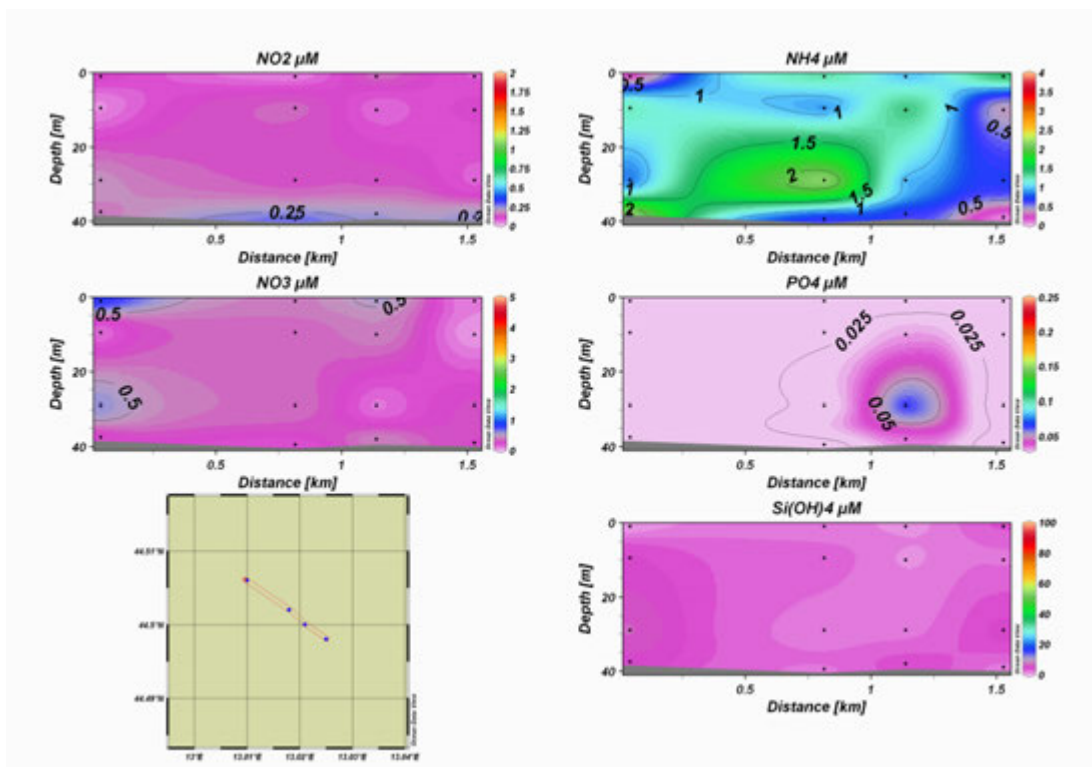




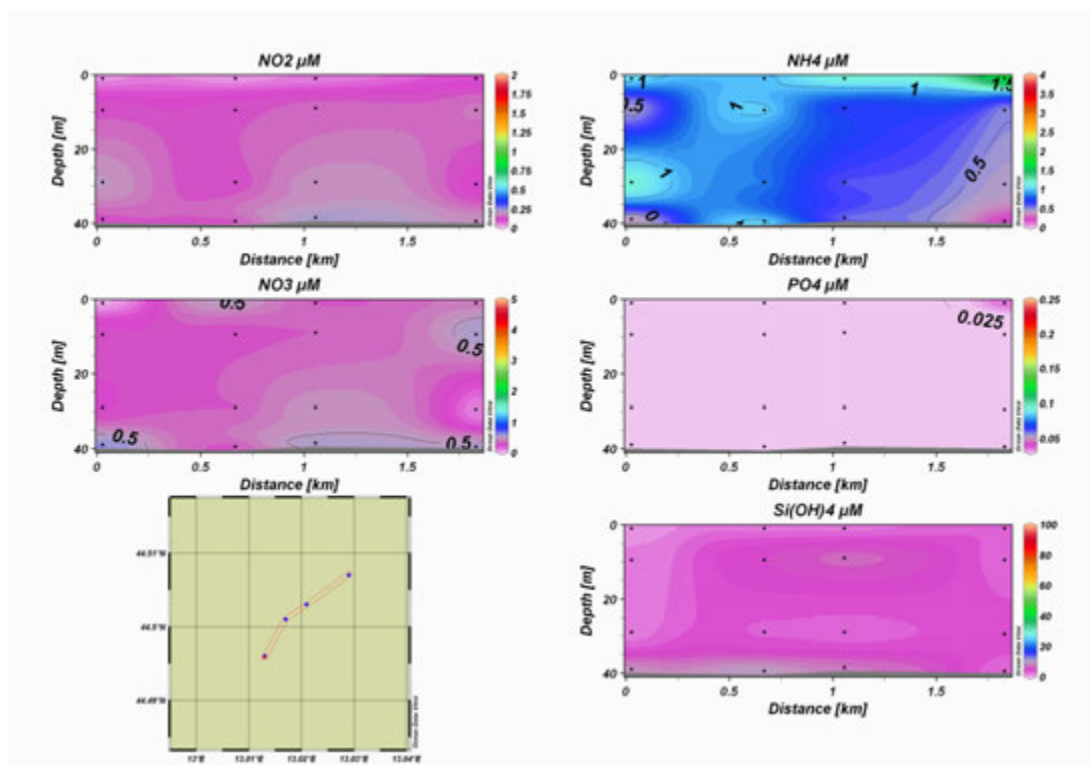
**Fig. 3.5a** - Sezione verticale delle stazioni **T08, T04, T02 e T06** (da sinistra a destra) rappresentante le concentrazioni ( $\mu\text{M}$ ) di nitriti ( $\text{NO}_2$ ), nitrati ( $\text{NO}_3$ ), ortofosfati ( $\text{PO}_4$ ) ortosilicati ( $\text{Si(OH)}_4$ ) ed ammonio ( $\text{NH}_4$ ). **Febbraio 2010**.



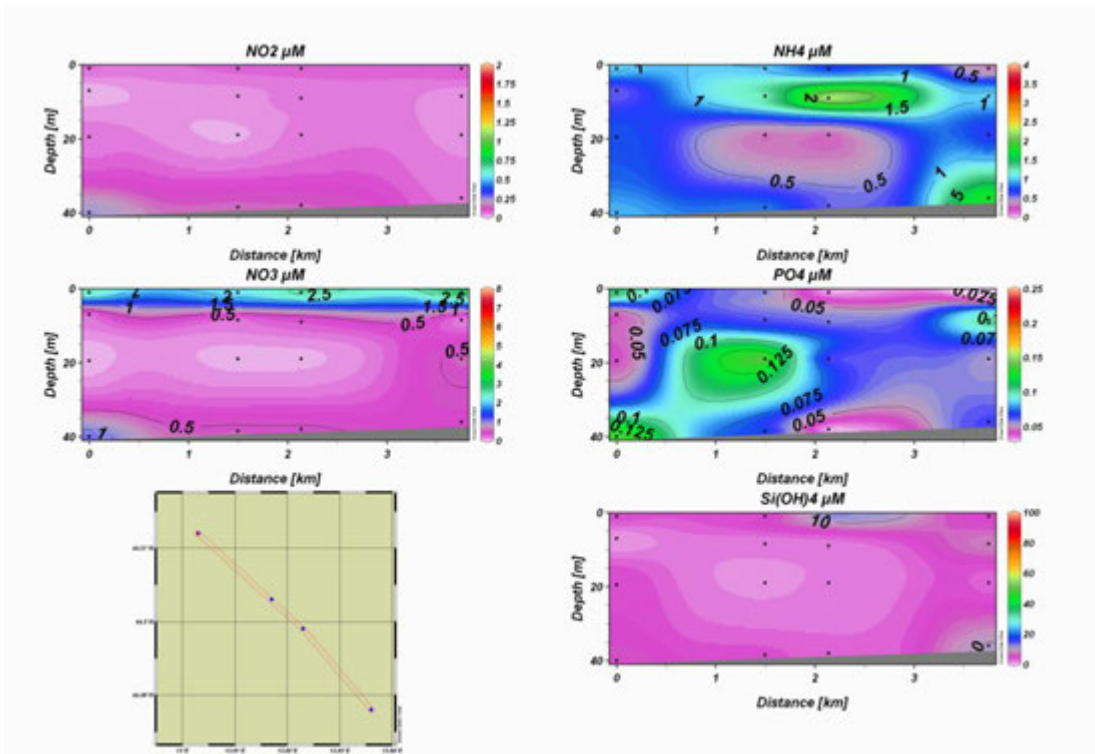
**Fig. 3.5b** - Sezione verticale delle stazioni **T05, T01, T03 e T07** (da sinistra a destra) rappresentante le concentrazioni ( $\mu\text{M}$ ) di nitriti ( $\text{NO}_2$ ), nitrati ( $\text{NO}_3$ ), ortofosfati ( $\text{PO}_4$ ) ortosilicati ( $\text{Si(OH)}_4$ ) ed ammonio ( $\text{NH}_4$ ). **Febbraio 2010**.



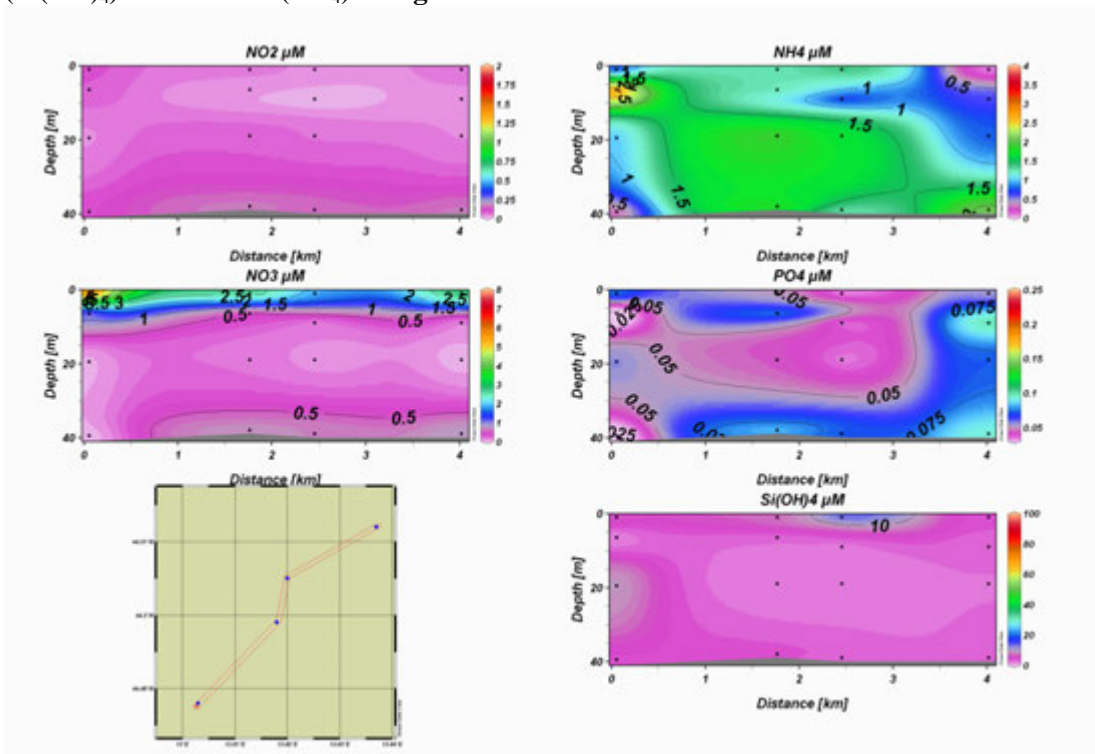
**Fig. 3.6a** - Sezione verticale delle stazioni **T08, T04, T02** e **T06** (da sinistra a destra) rappresentante le concentrazioni ( $\mu\text{M}$ ) di nitriti ( $\text{NO}_2$ ), nitrati ( $\text{NO}_3$ ), ortofosfati ( $\text{PO}_4$ ) ortosilicati ( $\text{Si(OH)}_4$ ) ed ammonio ( $\text{NH}_4$ ). **Aprile 2010**.



**Fig. 3.6b** - Sezione verticale delle stazioni **T05, T01, T03** e **T07** (da sinistra a destra) rappresentante le concentrazioni ( $\mu\text{M}$ ) di nitriti ( $\text{NO}_2$ ), nitrati ( $\text{NO}_3$ ), ortofosfati ( $\text{PO}_4$ ) ortosilicati ( $\text{Si(OH)}_4$ ) ed ammonio ( $\text{NH}_4$ ). **Aprile 2010**.



**Fig. 3.7a** - Sezione verticale delle stazioni **T08**, **T04**, **T02** e **T06** (da sinistra a destra) rappresentante le concentrazioni ( $\mu\text{M}$ ) di nitriti ( $\text{NO}_2$ ), nitrati ( $\text{NO}_3$ ), ortofosfati ( $\text{PO}_4$ ) ortosilicati ( $\text{Si}(\text{OH})_4$ ) ed ammonio ( $\text{NH}_4$ ). **Giugno 2010**.



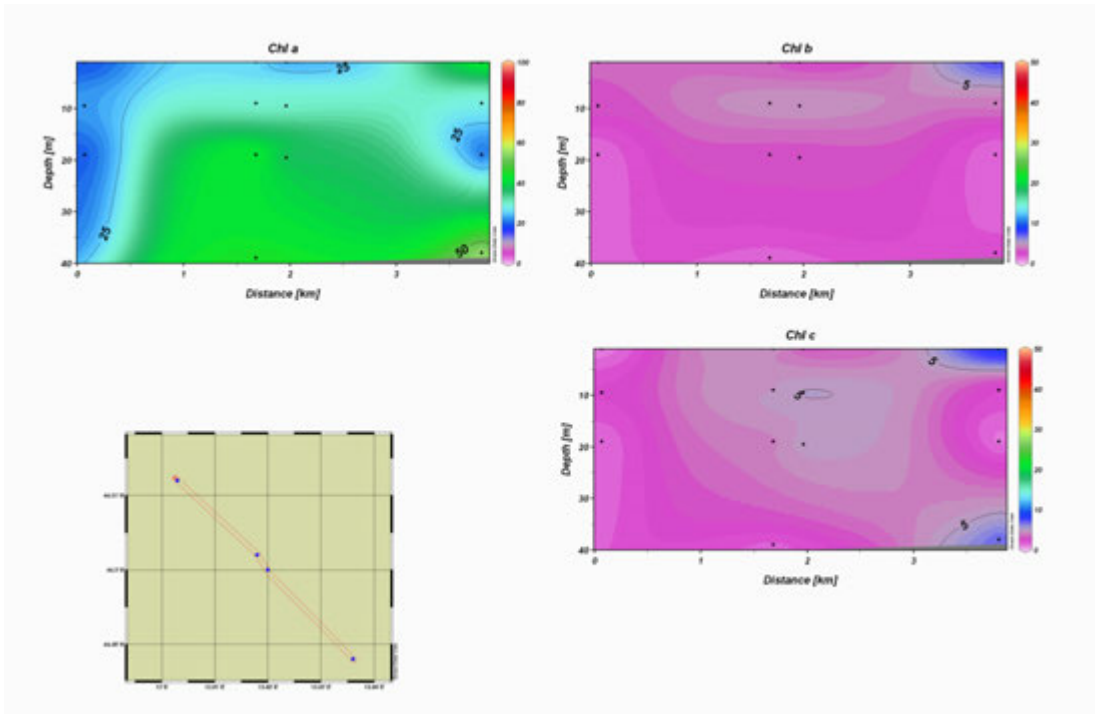
**Fig. 3.7b** - Sezione verticale delle stazioni **T05**, **T01**, **T03** e **T07** (da sinistra a destra) rappresentante le concentrazioni ( $\mu\text{M}$ ) di nitriti ( $\text{NO}_2$ ), nitrati ( $\text{NO}_3$ ), ortofosfati ( $\text{PO}_4$ ) ortosilicati ( $\text{Si}(\text{OH})_4$ ) ed ammonio ( $\text{NH}_4$ ). **Giugno 2010**.

### 3.1.4. CLOROFILLE A, B E C

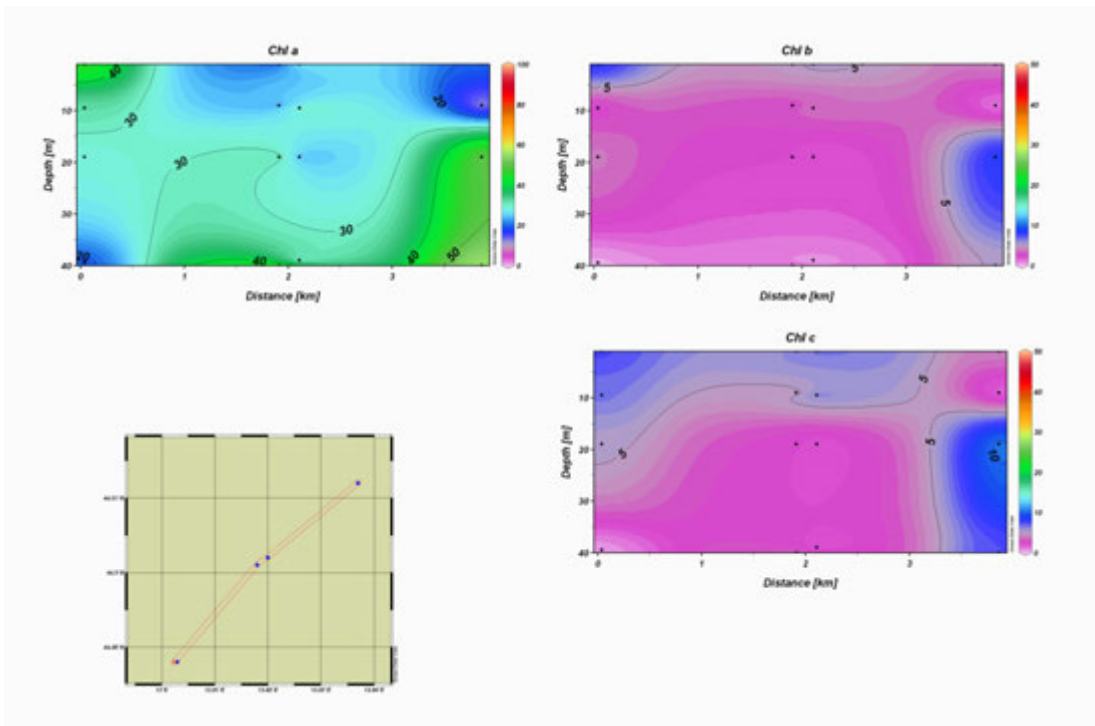
Per quanto riguarda le misure di clorofilla *a*, *b* e *c* misurate mediante HPLC, nel **febbraio 2010** (figg. 3.8a e 3.8b) sono state osservate concentrazioni per lo più basse. La clorofilla *a* ha mostrato i valori più elevati e compresi tra 10-30 ng l<sup>-1</sup>, in più stazioni, e un massimo di 68,54 ng l<sup>-1</sup> sul fondo della stazione T01. La clorofilla *b* è apparsa scarsa in tutta l'area, con valori per lo più inferiori a 5 ng l<sup>-1</sup> e un picco di 9,52 ng l<sup>-1</sup> alla quota dei 20 m della stazione T07. La clorofilla *c* è invece risultata compresa tra 0,5 (in più stazioni) e 11 ng l<sup>-1</sup> (T07, 20 m) in tutta l'area indagata.

Ad **aprile 2010** (figg. 3.9a e 3.9b) si sono spesso osservate concentrazioni più elevate di clorofilla nello strato di fondo. Ad esempio, il minimo di clorofilla *a* (0,1 ng l<sup>-1</sup>) è stato registrato sulla superficie della stazione T07, e il massimo (68,79 ng l<sup>-1</sup>) sul fondo della T07. La clorofilla *b* è risultata compresa tra 0,1 ng l<sup>-1</sup> (T02, fondo), e 13,61 ng l<sup>-1</sup> (T02, 30 m). La clorofilla *c* ha presentato, come la clorofilla *a*, concentrazioni spesso crescenti verso le quote di fondo. In questo caso, i valori sono risultati compresi tra 0,1 ng l<sup>-1</sup>, in più stazioni, e 16,48 ng l<sup>-1</sup> (T03, fondo).

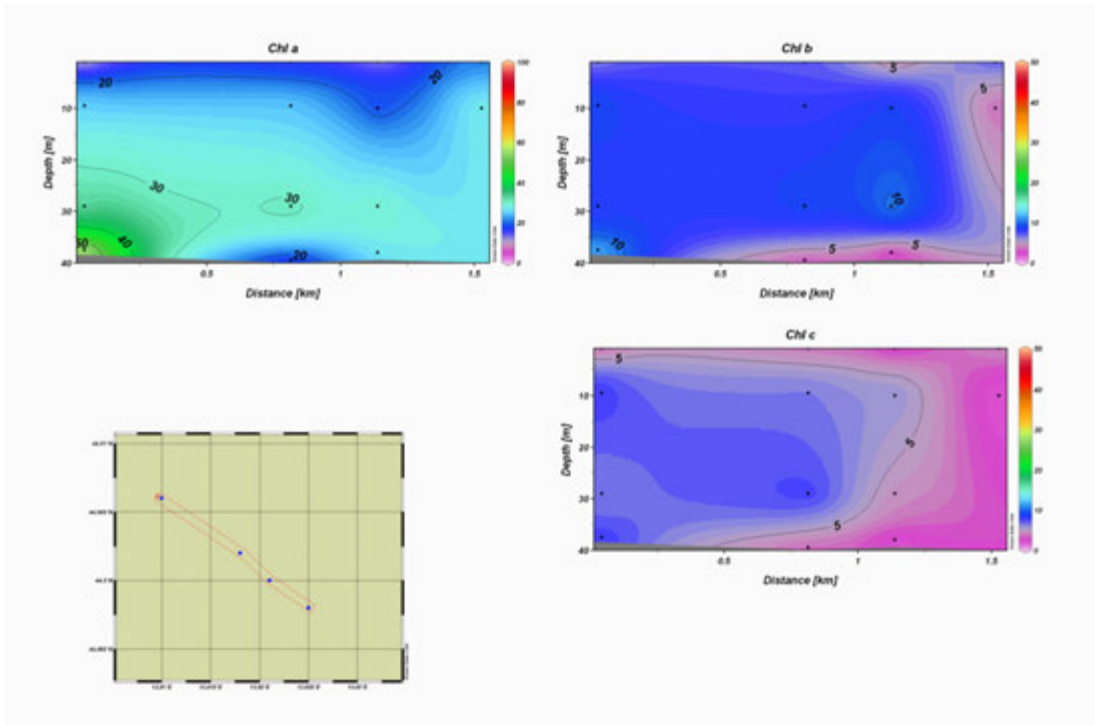
Nel mese di **giugno** (figg. 3.10a e 3.10b) le concentrazioni di clorofilla sono risultate leggermente aumentate rispetto al periodo precedente; in particolare, è apparso evidente l'aumento delle concentrazioni superficiali, dovuto probabilmente alla stratificazione alina che confina in superficie le acque più dolci e ricche di nutrienti, nitrati in particolare. La clorofilla *a* ha mostrato valori compresi tra 7,24 ng l<sup>-1</sup> (T04, 20 m) e 108,14 ng l<sup>-1</sup> (T08, superficie). La clorofilla *b* oscillava tra 0,1 ng l<sup>-1</sup>, in più stazioni, e 21,76 ng l<sup>-1</sup>, alla quota dei 10 m della T07. La clorofilla *c* è apparsa scarsa nelle stazioni vicine alla piattaforma, dove i valori sono risultati compresi tra 0,1 e 5 ng l<sup>-1</sup>. Il massimo (21,69 ng l<sup>-1</sup>) è stato registrato nella stazione T07 alla quota superficiale.



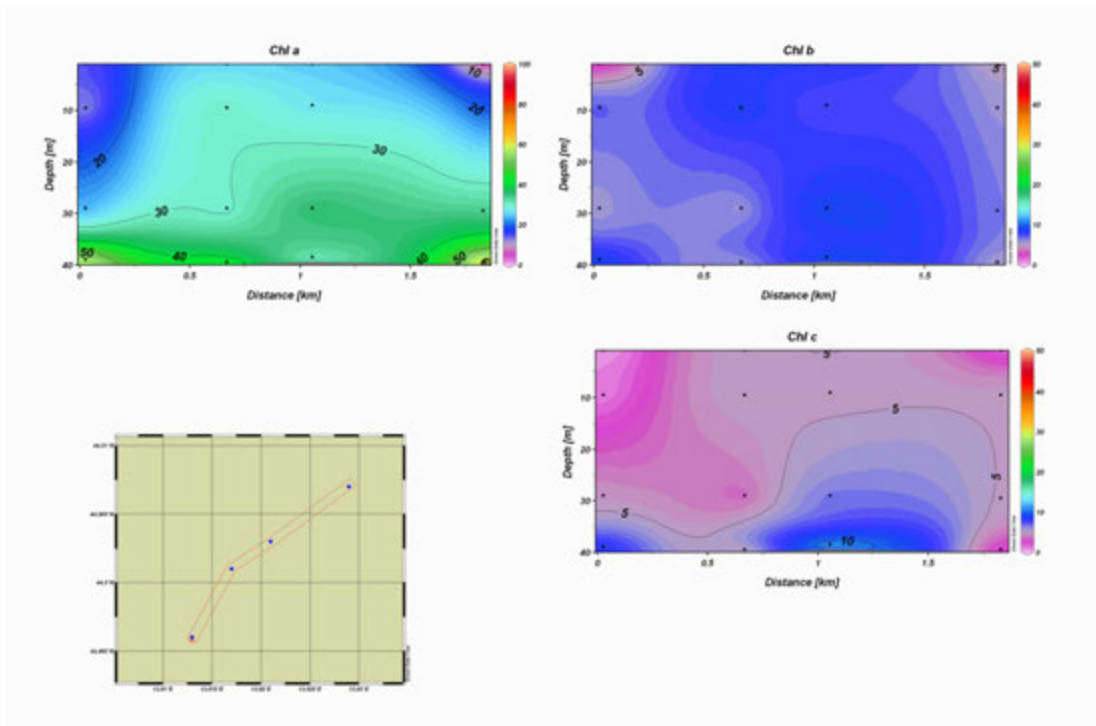
**Fig. 3.8a** - Sezione verticale delle stazioni **T08**, **T04**, **T02** e **T06** (da sinistra a destra) rappresentante le concentrazioni ( $\text{ng l}^{-1}$ ) di clorofilla *a* (Chl *a*), clorofilla *b* (Chl *b*) e clorofilla *c* (Chl *c*). **Febbraio 2010**.



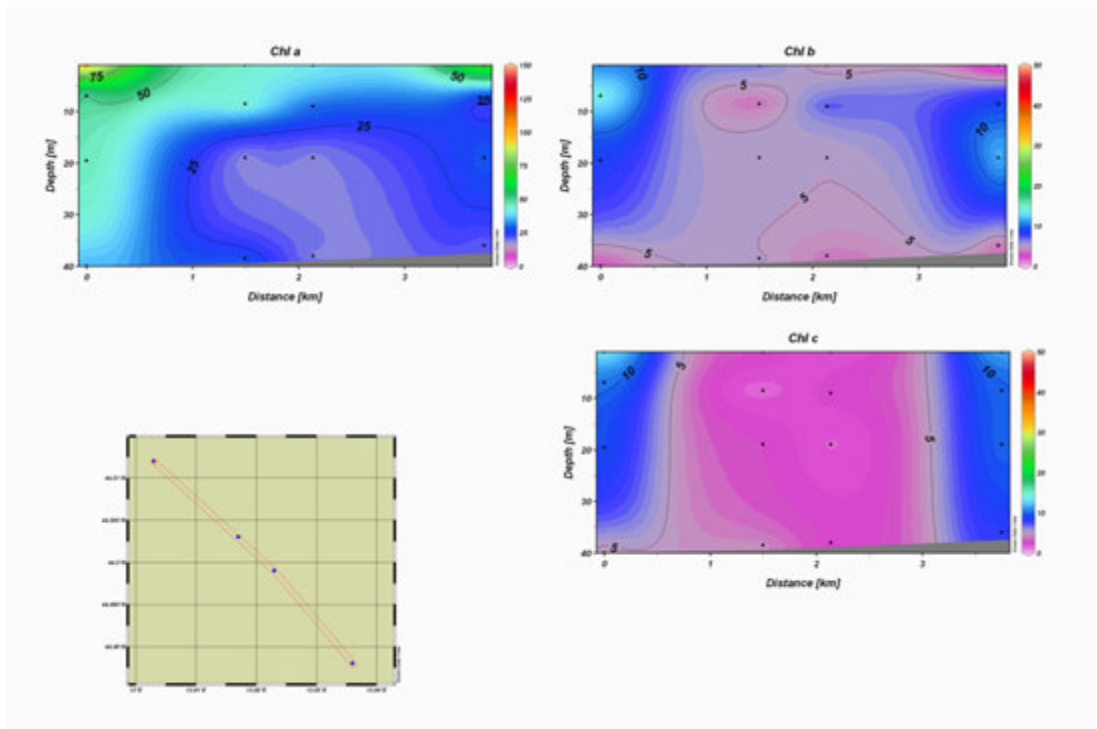
**Fig. 3.8b** - Sezione verticale delle stazioni **T05**, **T01**, **T03** e **T07** (da sinistra a destra) rappresentante le concentrazioni ( $\text{ng l}^{-1}$ ) di clorofilla *a* (Chl *a*), clorofilla *b* (Chl *b*) e clorofilla *c* (Chl *c*). **Febbraio 2010**.



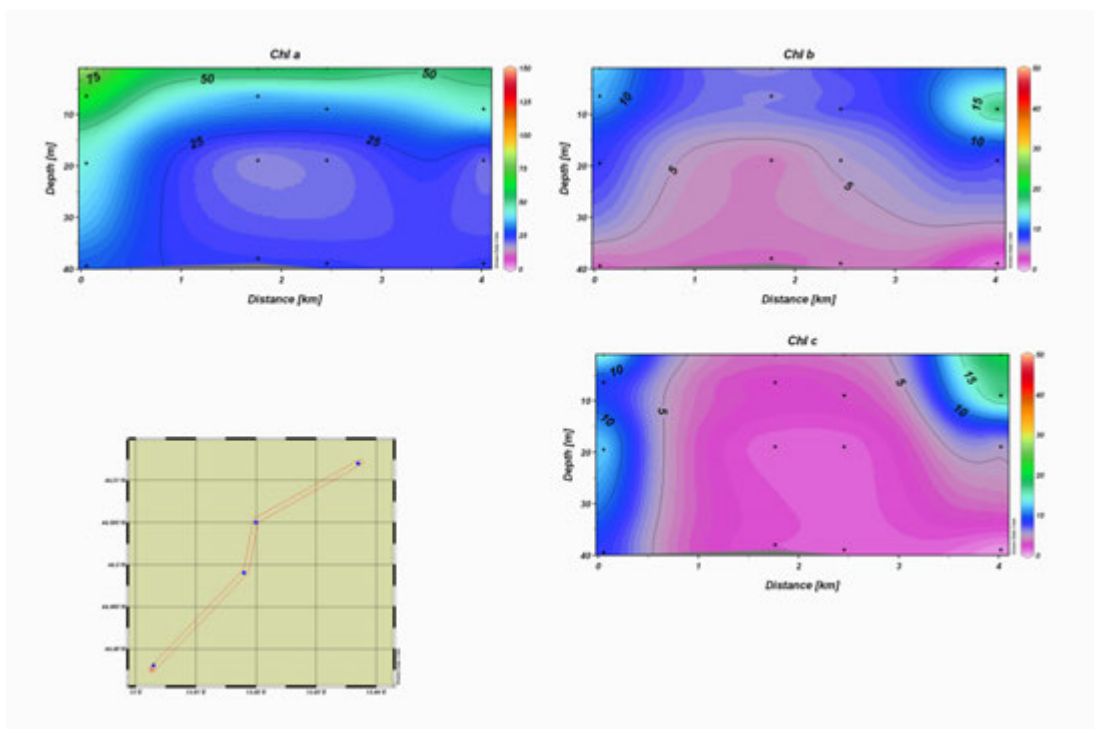
**Fig. 3.9a** - Sezione verticale delle stazioni **T08**, **T04**, **T02** e **T06** (da sinistra a destra) rappresentante le concentrazioni ( $\text{ng l}^{-1}$ ) di clorofilla *a* (Chl *a*), clorofilla *b* (Chl *b*) e clorofilla *c* (Chl *c*). **Aprile 2010.**



**Fig. 3.9b** - Sezione verticale delle stazioni **T05**, **T01**, **T03** e **T07** (da sinistra a destra) rappresentante le concentrazioni ( $\text{ng l}^{-1}$ ) di clorofilla *a* (Chl *a*), clorofilla *b* (Chl *b*) e clorofilla *c* (Chl *c*). **Aprile 2010.**



**Fig. 3.10a** - Sezione verticale delle stazioni **T08**, **T04**, **T02** e **T06** (da sinistra a destra) rappresentante le concentrazioni ( $\text{ng l}^{-1}$ ) di clorofilla *a* (Chl *a*), clorofilla *b* (Chl *b*) e clorofilla *c* (Chl *c*). **Giugno 2010**.



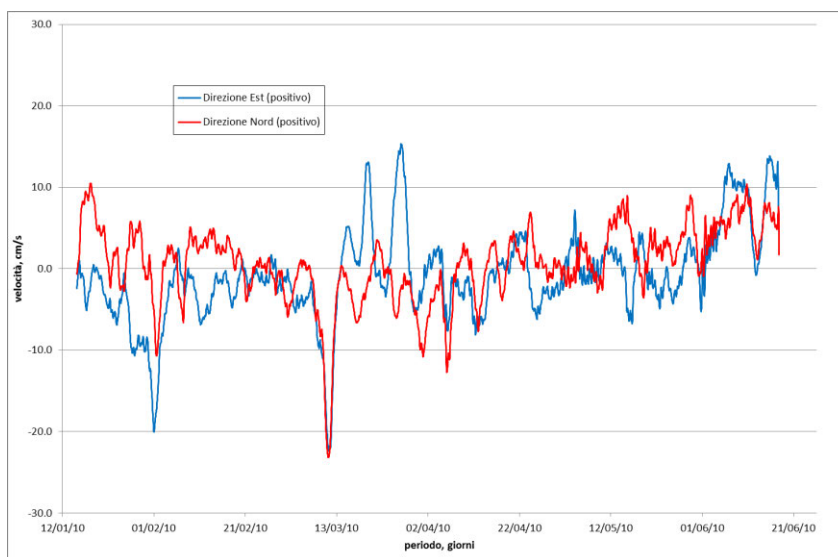
**Fig. 3.10b** - Sezione verticale delle stazioni **T05**, **T01**, **T03** e **T07** (da sinistra a destra) rappresentante le concentrazioni ( $\text{ng l}^{-1}$ ) di clorofilla *a* (Chl *a*), clorofilla *b* (Chl *b*) e clorofilla *c* (Chl *c*). **Giugno 2010**.

### 3.1.5. MISURE CORRENTOMETRICHE

I dati registrati in **superficie** con il correntometro ADCP hanno evidenziato la presenza di una corrente di intensità superiore a  $10 \text{ cm s}^{-1}$  e direzione variabile (figg. 3.11 e 3.12), con la presenza di un picco di maggiore intensità (superiore a  $20 \text{ cm s}^{-1}$ ) di direzione SW il 12 marzo 2010, probabilmente in corrispondenza di un evento atmosferico di pronunciata rilevanza quale la Bora.

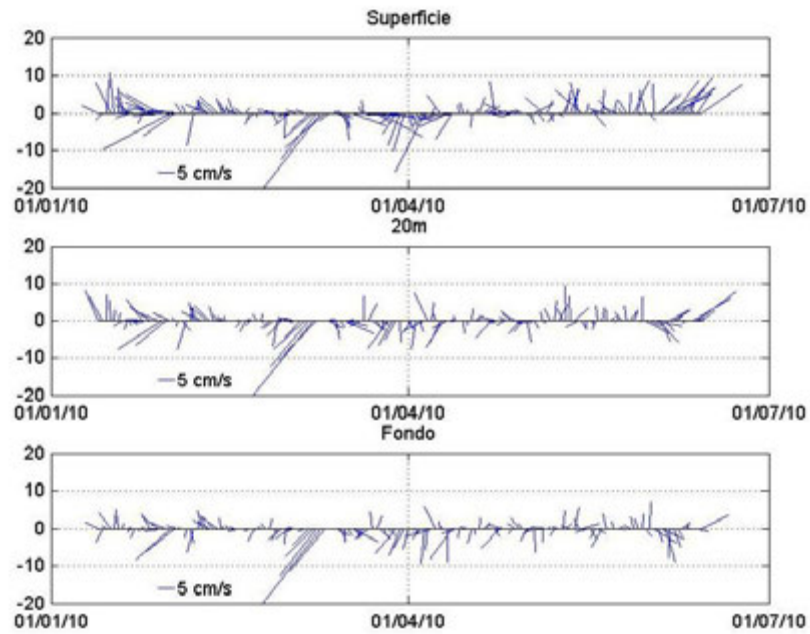
A **20 m** di profondità e sul **fondo** (figg. 3.12, 3.13 e 3.14) è stata registrata una corrente di più bassa intensità (inferiore a  $5 \text{ cm s}^{-1}$ ) rispetto a quella superficiale e direzione sempre quasi uguale a quella superficiale.

La **temperatura** sul fondo registrata dal correntometro ADCP (fig. 3.15) ha mostrato un andamento iniziale intorno a  $12^\circ\text{C}$  che è andato diminuendo fino ad arrivare a  $8,4^\circ\text{C}$  intorno al 22 marzo, corrispondente al valore di temperatura più basso di tutta la registrazione; è seguito un graduale aumento che ha portato a valori compresi fra 11 e  $12^\circ\text{C}$  a fine registrazione.

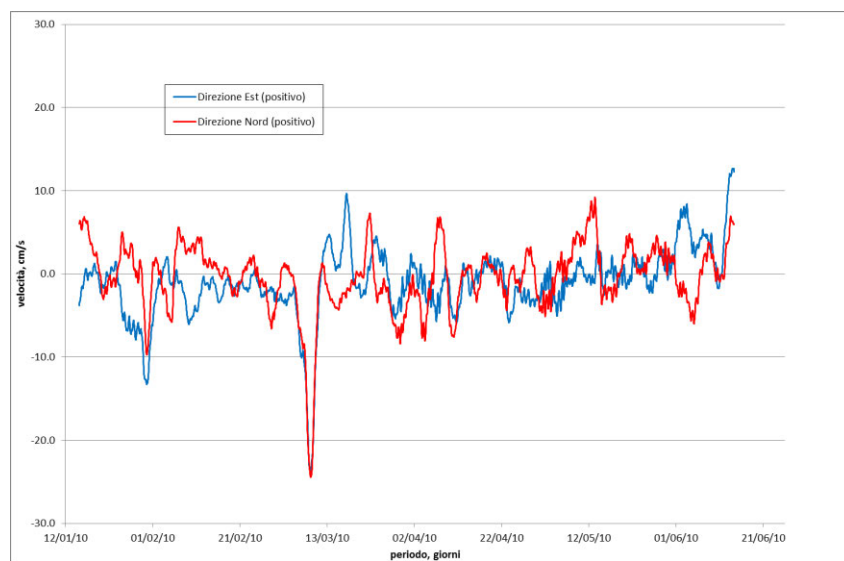


**Fig. 3.11** - Distribuzione ed intensità delle correnti registrate dal correntometro ADCP in **superficie** dal 01/02 al 30/06/2010 (media mobile 36 ore).

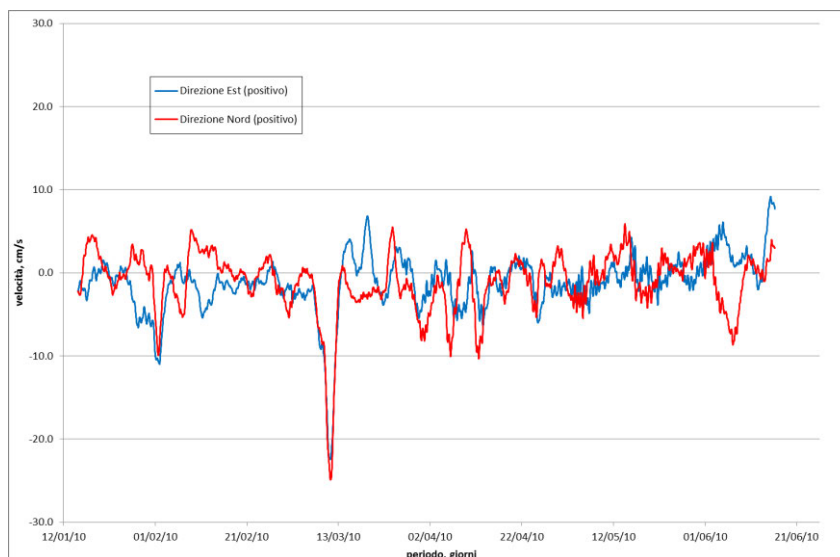




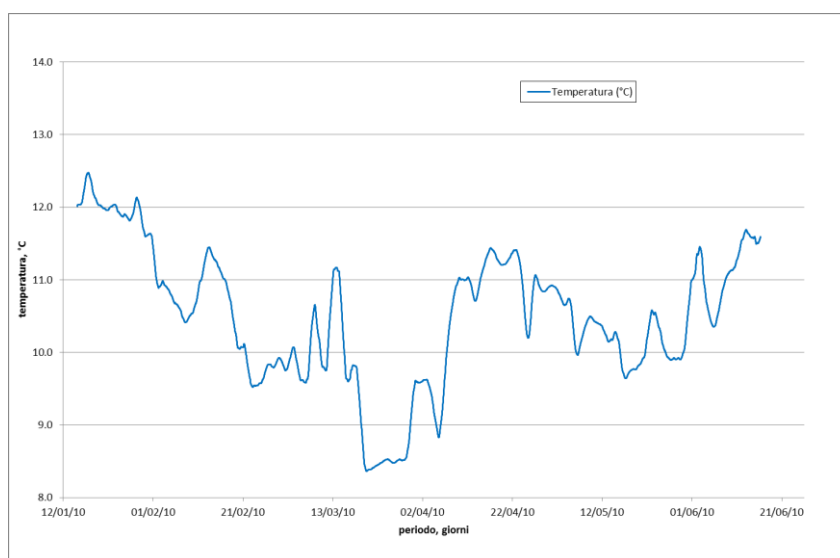
**Fig. 3.12** - Stickplot della corrente (medie giornaliere) in superficie, a 20 m e sul fondo registrata dal correntometro ADCP dal 01/02 al 30/06/2010.



**Fig. 3.13** - Distribuzione ed intensità delle correnti registrate a **20 m dal fondo** dal correntometro ADCP dal 01/02 al 30/06/2010 (media mobile 36 ore).



**Fig. 3.14** - Distribuzione ed intensità delle correnti registrate sul **fondo** dal correntometro ADCP dal 01/02 al 30/06/2010 (media mobile 36 ore).



**Fig. 3.15** – Andamento della temperatura registrata sul **fondo** dal correntometro ADCP dal 01/02 al 30/06/2010.

## 3.2. INDAGINI FISICHE E CHIMICHE DEI SEDIMENTI

### 3.2.1. GRANULOMETRIA

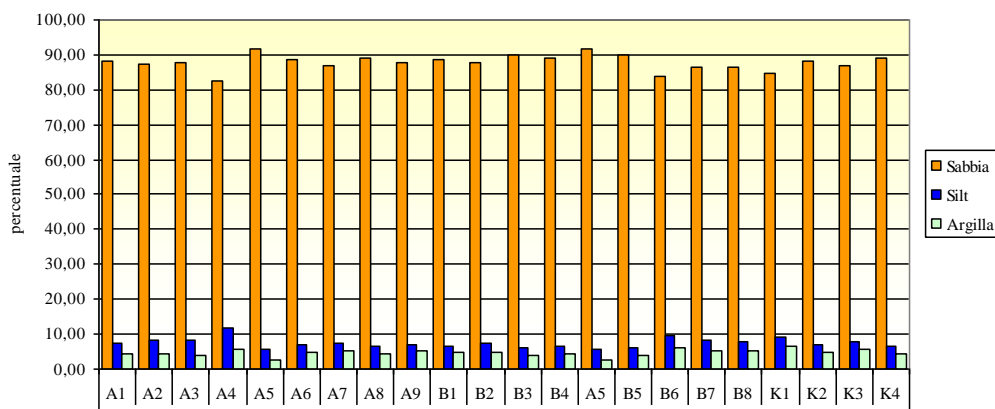
I sedimenti campionati nell'inverno 2010 sono apparsi piuttosto simili tra loro, sia come colore sia come tessitura. Tutti sono risultati costituiti in prevalenza da sabbia, con uno strato superficiale ossidato modesto ovunque che, nella maggior parte dei casi, era limitato a un film sottilissimo.

L'analisi granulometrica (Tab. 3-I; fig. 3.16) ha confermato che tutti i sedimenti erano costituiti per la maggior parte dalla componente sabbiosa, variabile tra l'82,52% (A4) e il 91,50% (A5).

**Tab. 3-I** - Composizione percentuale delle principali classi granulometriche determinata nei sedimenti campionati nell'inverno 2010. In rosso il sito corrispondente alla piattaforma Tea.

	Sabbia	Silt	Argilla	Classificazione di Sheppard
A1	88,31	7,49	4,20	Sabbia
A2	87,34	8,50	4,16	Sabbia
A3	87,92	8,11	3,97	Sabbia
A4	82,52	11,73	5,75	Sabbia
A5	91,50	5,70	2,79	Sabbia
A6	88,56	6,77	4,67	Sabbia
A7	87,00	7,62	5,38	Sabbia
A8	89,03	6,43	4,54	Sabbia
A9	87,73	7,19	5,08	Sabbia
B1	88,64	6,66	4,70	Sabbia
B2	87,62	7,49	4,89	Sabbia
B3	90,00	6,05	3,95	Sabbia
B4	89,14	6,57	4,29	Sabbia
A5	91,50	5,70	2,79	Sabbia
B5	90,01	6,04	3,95	Sabbia
B6	83,98	9,69	6,33	Sabbia
B7	86,31	8,28	5,41	Sabbia
B8	86,66	8,07	5,27	Sabbia
K1	84,54	9,06	6,40	Sabbia
K2	88,04	7,01	4,95	Sabbia
K3	86,70	7,80	5,51	Sabbia
K4	88,96	6,47	4,57	Sabbia

Come osservato nell'estate 2009 (Fabi *et al.*, 2015), anche nell'inverno 2010 la sabbia non ha mostrato alcun gradiente spaziale riconducibile alla presenza della struttura. Anche le altre componenti, di conseguenza, hanno presentato una variabilità casuale non riferibile a un preciso gradiente spaziale.



**Fig. 3.16** - Componenti granulometriche rilevate nei sedimenti campionati nell'inverno 2010.

Per tutto il periodo di studio gli andamenti di ciascuna componente lungo i transetti sono stati abbastanza simili a quelli dei controlli, sebbene non siano mancate le eccezioni che, nella maggior parte dei casi, erano comunque modeste (Fabi *et al.*, 2015).

### 3.2.2. IPA

Questi composti sono stati rilevati per la prima volta nell'inverno 2009 (Fabi *et al.*, 2015), sebbene in quantità modeste ovunque, tutte al di sotto degli LCB riportati da ICRAM-APAT (2007).

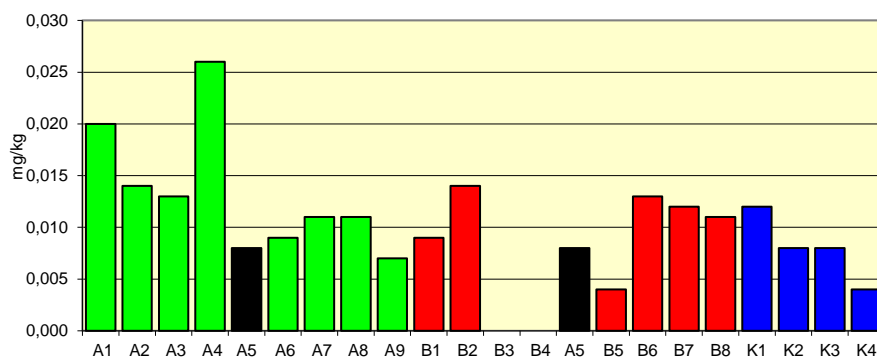
Nell'inverno 2010 il comportamento degli IPA è risultato, come già emerso nel 2009, molto eterogeneo (Tab. 3-II). Alcuni composti, infatti, sono stati rinvenuti diffusamente (fenantrene, fluorantene, pirene, crisene, benzo(b)fluorantene), altri sporadicamente (benzo(a)antracene, benzo(k)fluorantene, benzo(a)pirene), altri ancora sono risultati assenti in tutti i siti (acenaftilene, acenaftene, fluorene, antracene, dibenzo (a, h) antracene). In tutti i casi, gli IPA sono apparsi presenti in concentrazioni modeste, inferiori agli LCB, e nei siti B3 e B4 sono risultati completamente assenti (fig. 3.17).

Tra l'inverno 2009 (Fabi *et al.*, 2015) e quello del 2010 il valore più elevato è stato registrato in corrispondenza del controllo K1 nel primo campionamento (0,102 mg/kg), valore comunque molto basso se confrontato con l'LCB (0,900 mg/kg) e non è stato più confermato nei monitoraggi successivi.

Rimane comunque il fatto che questi composti non erano presenti nell'area di studio e sono comparsi successivamente (anche se non immediatamente) all'istallazione della piattaforma. E' presumibile che la loro presenza sia più legata all'aumento del traffico marittimo che non alle attività di estrazione di Tea.

**Tab. 3-II** – Concentrazioni (mg/kg s.s.) degli IPA nei sedimenti campionati nell'inverno 2010. In rosso il sito in corrispondenza della piattaforma. Per i composti per i quali sono disponibili sono riportati anche gli LCB indicati da ICRAM-APAT (2007).

	LCB	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	B1	B2	B3	B4	A5	B5	B6	B7	B8	K1	K2	K3	K4	
Naftalene	0,001			0,003	0,003	0,001	0,001				0,002			0,003		0,001	0,001	0,001					0,001	
Acenaftilene																								
Acenaftene																								
Fluorene																								
Fenantrene	0,003	0,002	0,002	0,004	0,001	0,002	0,002	0,002	0,001	0,002	0,002			0,001	0,001		0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,001	0,003
Antracene																								
Fluorantene	0,004	0,002	0,002	0,004	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002			0,001	0,001	0,003	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,001	0,004
Pirene	0,002	0,002	0,002	0,003	0,001	0,001	0,002	0,001	0,001	0,001	0,002			0,001		0,002	0,001	0,001	0,002	0,001	0,001			0,002
Benzo (a) antracene				0,001												0,001								
Crisene	0,002	0,002	0,002	0,003	0,001	0,001	0,002	0,002	0,001	0,001	0,002			0,001	0,001	0,002	0,002	0,001	0,002	0,001	0,001	0,001	0,002	
Benzo (b) fluorantene	0,003	0,003	0,002	0,003	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002			0,001	0,001	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,001	0,003
Benzo (k) fluorantene	0,001	0,001	0,001	0,001																			0,001	
Benzo (a) pirene				0,001																				
Dibenzo (a, h) antracene																								
Benzo (g, h,i) perilene	0,002	0,001	0,001	0,002				0,001			0,001					0,001	0,001	0,001	0,001				0,002	
Indeno (1,2,3 - c, d) pirene	0,002	0,001	0,001	0,001				0,001		0,001	0,001					0,001	0,001	0,001	0,001				0,002	
<b>IPA Totali</b>	<b>0,020</b>	<b>0,014</b>	<b>0,013</b>	<b>0,026</b>	<b>0,008</b>	<b>0,009</b>	<b>0,011</b>	<b>0,011</b>	<b>0,007</b>	<b>0,009</b>	<b>0,014</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,008</b>	<b>0,004</b>	<b>0,013</b>	<b>0,012</b>	<b>0,011</b>	<b>0,012</b>	<b>0,008</b>	<b>0,008</b>	<b>0,004</b>	<b>0,020</b>	



**Fig. 3.17** – Concentrazioni degli IPA nei sedimenti campionati nell’inverno 2010. In nero il sito in corrispondenza della piattaforma.

### 3.2.3. METALLI PESANTI

I risultati dell’analisi dei metalli pesanti condotte sui sedimenti prelevati nell’inverno 2010 sono riportati in Tab. 3-III e in fig. 3.18. Nel calcolo dei valori medi ( $\pm$  dev.st.) è stata esclusa la stazione A5. Qui si riporta un breve confronto con il monitoraggio precedente condotto nell’estate 2009. Per gli andamenti temporali dei vari metalli a partire dal pre-survey si rimanda a Fabi *et al.*, 2015.

**Alluminio** – Le concentrazioni di alluminio rilevate nell’inverno 2010 sono risultate molto basse in tutti i siti campionati, con un minimo in corrispondenza di A2 (0,09%). Per questo motivo, le differenze osservate tra le singole stazioni devono essere valutate con cautela. Comunque, i tenori maggiori lungo entrambi i transetti sono stati registrati ad Est di Tea. Al di là di tali variazioni, mediamente transetti (A:  $0,99 \pm 0,39$ ; B:  $0,99 \pm 0,14$ %), controlli ( $0,81 \pm 0,15$ %) e sito A5 (0,73%) sono risultati omogenei. Rispetto al monitoraggio precedente (Fabi *et al.*, 2015) si è verificato un aumento che ha coinvolto anche i controlli, ma le concentrazioni sono comunque risultate inferiori o comparabili a quelle del pre-survey.

**Bario** – Le concentrazioni di bario determinate nei sedimenti campionati nell’inverno 2010 sono oscillate tra 226,45 mg/kg (A3) e 75,5 mg/kg (A2), con valori medi confrontabili tra transetti (A:  $164,46 \pm 45,44$ ; B:  $154,87 \pm 22,45$  mg/kg) e controlli ( $132,67 \pm 9,48$  mg/kg). Presso Tea è stata registrata una concentrazione molto prossima al massimo assoluto (225,94 mg/kg).

Nei rami meridionali di entrambi i transetti è apparsa evidente la tendenza del bario ad aumentare nella direzione della piattaforma, esibendo pertanto un gradiente spaziale

osservato a Nord solo lungo A. Rispetto all'estate 2009 (Fabi *et al.*, 2015) questo metallo è incrementato praticamente ovunque in maniera paragonabile tra transetti e controlli, ad eccezione di A5 dove il bario ha esibito l'aumento più cospicuo (estate 2009: 120,88 mg/kg) che ha portato a un tenore del metallo superiore a quello del pre-survey (161,85 mg/kg), analogamente a quanto verificatosi nei siti posti a 60 m dalla piattaforma, mentre ai controlli le concentrazioni del 2010 sono apparse inferiori a quelle registrate prima dell'installazione di Tea.

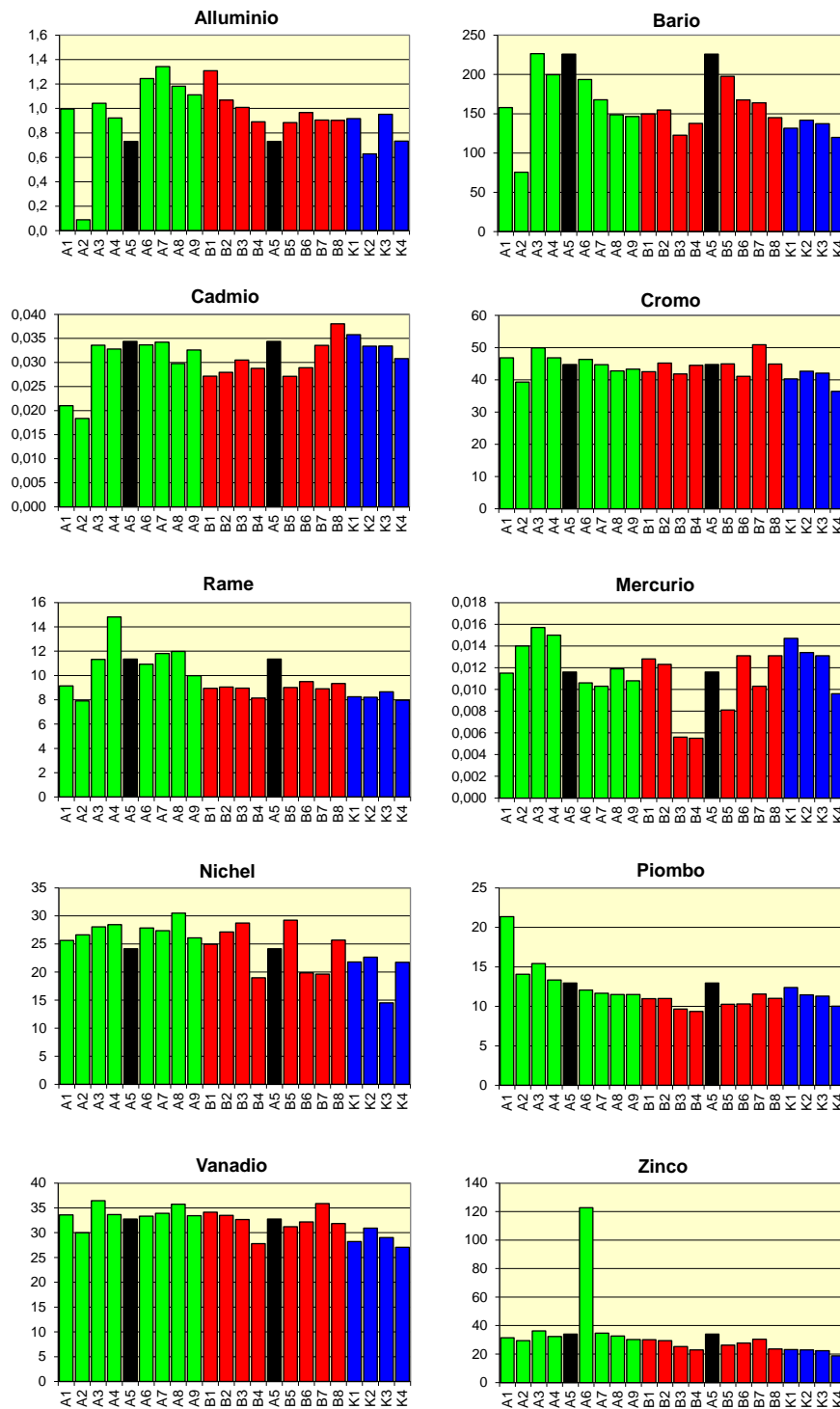
**Tab. 3-III** - Concentrazioni (mg/kg s.s.; Al espresso in % ) dei metalli in tracce presenti nei sedimenti campionati nell'inverno 2010. In rosso il sito corrispondente alla piattaforma Tea. Ove disponibile è riportato l'LCB indicato da ICRAM-APAT (2007) per sedimenti con pelite <25%.

	Al	Ba	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	V	Zn
LCB (mg kg <sup>-1</sup> )			0,20	50	15	0,20	32	25		50
A1	0,99	157,86	0,0210	46,79	9,14	0,0115	25,62	21,36	33,58	31,43
A2	0,09	75,52	0,0184	39,28	7,91	0,0140	26,62	14,06	29,99	29,45
A3	1,04	226,45	0,0336	49,90	11,32	0,0157	28,06	15,42	36,44	36,25
A4	0,92	199,58	0,0328	46,80	14,81	0,0150	28,45	13,33	33,66	32,29
A5	0,73	225,94	0,0344	44,74	11,34	0,0116	24,17	12,95	32,75	33,95
A6	1,24	193,46	0,0336	46,30	10,93	0,0106	27,84	12,05	33,33	122,68
A7	1,34	167,70	0,0342	44,69	11,81	0,0103	27,36	11,65	33,91	34,66
A8	1,18	148,75	0,0298	42,75	11,98	0,0119	30,49	11,49	35,72	32,67
A9	1,11	146,37	0,0326	43,29	9,99	0,0108	26,08	11,49	33,44	30,22
B1	1,31	149,66	0,0271	42,48	8,95	0,0128	24,94	10,97	34,13	30,06
B2	1,07	154,69	0,0279	45,16	9,05	0,0123	27,15	10,98	33,47	29,35
B3	1,01	122,63	0,0305	41,79	8,96	0,0056	28,73	9,67	32,66	25,28
B4	0,89	137,71	0,0288	44,51	8,14	0,0055	18,97	9,36	27,79	22,88
A5	0,73	225,94	0,0344	44,74	11,34	0,0116	24,17	12,95	32,75	33,95
B5	0,88	197,56	0,0271	44,93	9,01	0,0081	29,23	10,26	31,19	26,22
B6	0,97	167,64	0,0289	41,09	9,50	0,0131	19,87	10,30	32,16	27,68
B7	0,91	164,01	0,0336	50,88	8,90	0,0103	19,63	11,56	35,88	30,39
B8	0,90	145,03	0,0380	44,90	9,34	0,0131	25,70	11,00	31,85	23,54
K1	0,92	131,70	0,0358	40,28	8,25	0,0147	21,80	12,38	28,20	23,12
K2	0,63	141,80	0,0334	42,68	8,21	0,0134	22,65	11,46	30,93	22,87
K3	0,95	137,31	0,0334	42,04	8,65	0,0131	14,52	11,29	29,02	22,29
K4	0,73	119,86	0,0308	36,41	7,96	0,0096	21,74	10,03	27,04	18,76

**Cadmio** – Le concentrazioni di cadmio determinate nei sedimenti lungo i transetti campionati nell'inverno 2010 sono risultate estremamente modeste ovunque (si consideri che l'LCB è 0,20 mg/kg) e inferiori o del tutto paragonabili ai riferimenti. In termini di valori medi, non sono state riscontrate differenze tra i gruppi di stazioni (A: 0,029±0,006; B: 0,030±0,004; K: 0,033±0,002 mg/kg), né tra questi e A5 (0,034 mg/kg).

Non sono apparsi evidenti andamenti spaziali eccetto un decremento da B8 a B5. Rispetto all'estate 2009 (Fabi *et al.*, 2015) il cadmio, già presente in quantità modeste, si è

ulteriormente ridotto ovunque, arrivando a concentrazioni leggermente inferiori a quelle del pre-survey sia nell'area circostante Tea che ai controlli.



**Fig. 3.18** – Concentrazioni (mg/kg s.s.; Al espresso in %) dei metalli pesanti rilevate nei sedimenti campionati nell'inverno 2010. In nero il sito corrispondente alla piattaforma Tea.



**Cromo** – Le concentrazioni di cromo determinate nei sedimenti campionati nell'inverno 2010 sono oscillate tra 50,88 mg/kg, massimo registrato in B7, unico valore superiore all'LCB (50,0 mg/kg), e 36,41 mg/kg, minimo rilevato in K4. Mediamente non sono state riscontrate differenze tra i valori ottenuti per A (44,97±3,23 mg/kg), B (44,47±3,04 mg/kg) e K (40,35±2,82 mg/kg). A5 ha presentato una concentrazione che, seppur modesta anch'essa, è però risultata lievemente superiore alla media dei controlli (44,74 mg/kg). Rispetto all'estate 2009 (Fabi *et al.*, 2015) si è verificato un diffuso incremento che ha riguardato anche i siti di riferimento. I tenori ai controlli sono risultati inferiori a quelli del pre-survey, quando erano risultati notevolmente superiori rispetto all'area della futura piattaforma, mentre attorno a Tea le ultime concentrazioni sono apparse superiori.

**Rame** – Le concentrazioni medie di rame determinate nei sedimenti lungo i transetti campionati nell'inverno 2010 sono risultate modeste e paragonabili a quelle dei riferimenti (A: 10,98±2,08; B: 8,98±0,40; K: 8,27±0,29 mg/kg). Il sito nelle immediate vicinanze della piattaforma (A5) ha presentato un concentrazione (11,34 mg/kg) maggiore rispetto sia alla media dei controlli che a quella del transetto B, ma comunque inferiore all'LCB (15 mg/kg). Dati i tenori così bassi, anche il picco registrato in A4 è da considerare trascurabile.

Rispetto all'estate 2009 (Fabi *et al.*, 2015) si è verificato un diffuso incremento che ha riguardato anche i siti di riferimento. Tale incremento ha portato ai controlli e, soprattutto, nei siti attorno a Tea, a un contenuto di rame superiore rispetto al pre-survey.

**Mercurio** – Anche le concentrazioni di mercurio determinate nell'inverno 2010 sono risultate molto modeste e omogenee tra siti (A: 0,012±0,002; B: 0,010±0,003; K: 0,013±0,002; A5: 0,012 mg/kg; LCB: 0,20 mg/kg), confermando quanto emerso dai monitoraggi precedenti. Dal punto di vista spaziale è solo evidente un incremento da 250 a 60 m a NW della piattaforma (A4) seguito da una riduzione sino ad A5.

Rispetto all'estate 2009 (Fabi *et al.*, 2015) per il mercurio si è verificato un decremento generale che ha portato a concentrazioni notevolmente inferiori a quelle del pre-survey.

**Nichel** – Le concentrazioni di nichel determinate lungo i transetti nell'inverno 2010 sono apparse molto modeste (LCB: 32 mg/kg), con un minimo in B4 (18,97 mg/kg) e un massimo in A8 (30,49 mg/kg). Sebbene la maggior parte dei siti abbia esibito una concentrazione più elevata rispetto alla media dei controlli (20,18±3,79 mg/kg), si ritiene che le concentrazioni siano troppo modeste per indicare uno stato di contaminazione

dell'area. Rispetto al monitoraggio precedente anche per il nichel è avvenuto un incremento generale che ha portato a concentrazioni in A5 e nei siti a 60 m da Tea notevolmente superiori a quelle del pre-survey. Invece, ai controlli, caratterizzati da tenori di nichel fortemente superiori rispetto all'area della piattaforma prima della sua installazione, nel 2010 il metallo si è leggermente ridotto (Fabi *et al.*, 2015).

**Piombo** – Anche le concentrazioni di piombo determinate lungo i transetti nell'inverno 2010 sono apparse modeste e confrontabili con quelle dei riferimenti. Il valore maggiore, pari a quasi 2 volte la media dei controlli ( $11,29 \pm 0,97$  mg/kg) è stato rilevato in A1 (21,36 mg/kg), ma è ancora modesto (LCB: 25 mg/kg) per indicare uno stato di contaminazione dell'area.

Rispetto all'estate 2009 anche il piombo ha esibito un incremento generalizzato che ha tuttavia portato a concentrazioni simili a quelle registrate nel pre-survey sia ai controlli che nell'area circostante la piattaforma (Fabi *et al.*, 2015).

**Vanadio** – Parimenti ai metalli precedentemente descritti, anche le concentrazioni di vanadio determinate nell'inverno 2010 lungo i transetti sono apparse omogenee tra loro, anche se mediamente il transetto A è risultato leggermente più contaminato dei controlli (A:  $33,76 \pm 1,91$ ; B:  $32,39 \pm 2,37$ ; K:  $28,80 \pm 1,63$  mg/kg), così come il sito A5 (32,75 mg/kg). Rispetto al monitoraggio precedente il vanadio si è comportato come la maggior parte dei metalli già descritti, presentando un incremento che ha coinvolto anche i controlli e che ha portato A5 e i siti a 60 m da essa su tenori superiori a quelli del pre-survey. Ai controlli invece, che nel pre-survey erano apparsi notevolmente più impattati da vanadio rispetto all'area della futura piattaforma, i tenori sono risultati inferiori a quelli registrati prima della costruzione di Tea (Fabi *et al.*, 2015).

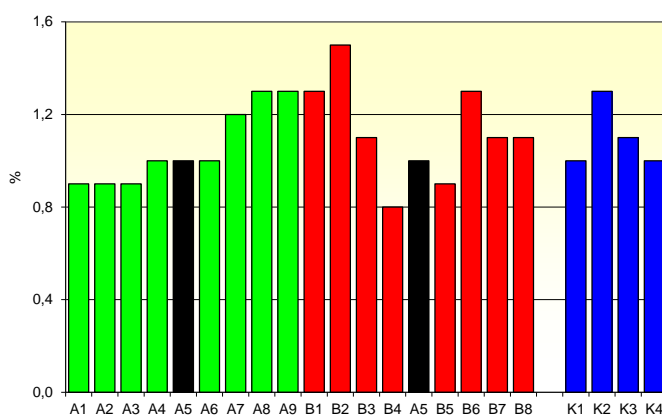
**Zinco** – Se si esclude il sito A6, le concentrazioni di zinco determinate nell'inverno 2010 lungo i transetti e in A5 sono risultate modeste, molto omogenee tra loro e confrontabili con i controlli. L'unica eccezione, come già anticipato, è stata osservata in A6 (122,68 mg/kg) dove il picco mai osservato in precedenza (Fabi *et al.*, 2015), notevolmente superiore all'LCB (50 mg/kg), è risultato pari a oltre 5 volte la media dei controlli ( $21,76 \pm 2,03$  mg/kg). Rispetto all'estate 2009 lo zinco si è ridotto in A5 e ai controlli, mentre lungo i transetti è leggermente aumentato (in modo cospicuo in A6). Rispetto al pre-survey anche questo metallo è aumentato attorno a Tea mentre ai controlli si è lievemente ridotto (Fabi *et al.*, 2015).

### 3.2.4. SOSTANZA ORGANICA

Le percentuali di sostanza organica determinate nei sedimenti campionati nell'inverno 2010 lungo i transetti sono oscillate tra 0,80% (B4) e 1,50% (B2); mediamente, non sono state riscontrate differenze tra transetti (A:  $1,06 \pm 0,18\%$ ; B:  $1,14 \pm 0,23\%$ ) e controlli ( $1,10 \pm 0,14\%$ ) e in A5 la percentuale di sostanza organica è risultata comparabile ai tre gruppi di stazioni (Tab. 3-IV; fig. 3.19). Dal punto di vista spaziale è stata notata una tendenza all'incremento all'aumentare della distanza da Tea, in particolare verso SE e NE. Rispetto all'estate 2009 non si sono verificati cambiamenti degni nota e le concentrazioni raggiunte nell'ultimo survey sono apparse inferiori a quelle del pre-survey sia in A5 che ai controlli (Fabi *et al.*, 2015).

**Tab. 3-IV** – Percentuale di sostanza organica (s.s.) rilevate nei sedimenti campionati nell'inverno 2010. In rosso il sito corrispondente alla piattaforma Tea.

<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>	<b>A4</b>	<b>A5</b>	<b>A6</b>	<b>A7</b>	<b>A8</b>	<b>A9</b>
0,90	0,90	0,90	1,00	1,00	1,00	1,20	1,30	1,30
<b>B1</b>	<b>B2</b>	<b>B3</b>	<b>B4</b>	<b>A5</b>	<b>B5</b>	<b>B6</b>	<b>B7</b>	<b>B8</b>
1,30	1,50	1,10	0,80	1,00	0,90	1,30	1,10	1,10
<b>K1</b>	<b>K2</b>	<b>K3</b>	<b>K4</b>					
1,00	1,30	1,10	1,00					



**Fig. 3.19** - Percentuale di sostanza organica ( s.s.) rilevate nei sedimenti campionati nell'inverno 2010. In nero il sito corrispondente alla piattaforma Tea.

### 3.3. ECOTOSSICOLOGIA DEI SEDIMENTI

#### 3.3.1. *COROPHIUM ORIENTALE*

I parametri chimici e fisici dell'acqua sovrastante il sedimento, registrati all'inizio e al termine del saggio biologico condotto nell'inverno 2010 sono riportati in Tab. 3-V.

**Tab. 3-V** - Parametri chimici e fisici dell'acqua sovrastante il sedimento, registrati all'inizio e al termine del saggio biologico effettuato nell'inverno 2010. In rosso il sito della piattaforma.

Campione	Inizio del test					Fine del test				
	Temp. (°C)	Salinità (%)	pH	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	O <sub>2</sub> (%)	Temp. (°C)	Salinità (%)	pH	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	O <sub>2</sub> (%)
Controllo	16±1°	36	8,10	0	90±5	16±1°	36	8,15	0-0,5	90±5
A5		36	8,13	1,0			36	8,24	0-0,5	
A7		36	8,16	1,0			37	8,24	0-0,5	
A9		36	8,19	2,0			37	8,25	0-0,5	
B6		36	8,18	1,0			35	8,25	0-0,5	
B8		36	8,17	0,5			36	8,22	0-0,5	
K1		36	8,17	0,5			36	8,22	0-0,5	
K4		36	8,16	0,5			36	8,19	0-0,5	

La sensibilità rilevata degli organismi verso il tossico di riferimento (CdCl<sub>2</sub>) LC 50 = 2,83 (LC = 2,17 mg/l e UC = 3,69 mg/l) è rientrata nella carta di controllo di laboratorio.

L'esposizione degli organismi per 28 gg ai campioni testati ha dimostrato la presenza di tossicità cronica media nel sedimento K1 e di tossicità cronica bassa nei sedimenti A5 e A7 (Tab. 3-VI). Nelle rimanenti stazioni non è stata rilevata alcuna tossicità cronica per gli organismi test.

**Tab. 3-VI** - Percentuali di mortalità degli organismi *C.orientale* osservati nel test di tossicità a più lungo termine nell'inverno 2010. In rosso è indicata la stazione della piattaforma.

Campione	Numero degli organismi esposti	% degli organismi morti (± d.s.)	% (corretta) degli organismi morti	Tossicità
controllo	100	0 ± 0	0	Assente
A5	100	15 ± 6,00	15	Bassa
A7	100	15 ± 3,83	15	Bassa
A9	100	12 ± 3,27	12	Assente
B6	100	10 ± 2,31	19	Assente
B8	100	11 ± 3,83	11	Assente
K1	100	32 ± 3,27	32	Media
K4	100	6 ± 2,31	6	Assente

Rispetto ai monitoraggi precedenti (Fabi *et al.*, 2015), i risultati ottenuti nell'inverno 2010 hanno dimostrato un lieve deterioramento in A5 e A7 e un cambiamento più negativo al

controllo K1.

### 3.3.2. *PARACENTROTUS LIVIDUS*

I parametri registrati negli elutriati dell'inverno 2010 sono riportati in Tab. 3-VII.

La sensibilità dei gameti impiegati nei confronti del nitrato di rame ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), usato come tossico di riferimento, rientra nei limiti della carta di controllo del laboratorio per l'accettabilità del test ( $\text{EC}_{50} = 41,10 \mu\text{g/l}$ ;  $\text{LC} = 37,49 \mu\text{g/l}$ ;  $\text{UC} = 45,06 \mu\text{g/l}$ ).

**Tab. 3-VII** - Parametri registrati negli elutriati nell'inverno 2010. In rosso il sito della piattaforma.

Campione	Salinità (‰)	pH
controllo	38	8,10
A5	38	8,17
A7	37	7,91
A9	37	8,29
B6	38	8,18
B8	36	7,85
K1	37	8,27
K4	37	8,24

In Tab. 3-VIII sono riportati i risultati del test di fecondazione con il *P.lividus* e la stima dei valori dell'EC20 e dell'EC50.

Soltanto nell'elutriato estratto dal sedimento A5 è stata osservata una riduzione delle uova fecondate rispetto al controllo negativo, determinata dalla presenza di tossicità acuta di basso grado. Tutti gli altri elutriati sono risultati privi di tossicità acuta.

Analogamente ai due survey effettuati nel 2009 (Fabi *et al.*, 2015), anche nell'inverno 2010 è stata registrata l'assenza di tossicità acuta degli elutriati A9, B6, B8, K1 e K4. La tossicità acuta bassa dell'elutriato estratto dal sedimento A5 ha dimostrato un lieve peggioramento rispetto all'anno precedente, confermando quanto osservato in questo sito dall'inverno 2007 all'estate 2008.

**Tab. 3-VIII** - Risultati del saggio biologico di fecondazione e stima dei valori dell'EC20 e dell'EC50 ottenuti nell'inverno 2010. In rosso il sito della piattaforma.

Campione	Concentrazione dell'elutriato (%)	% di uova fecondate			Media di uova non fecondate	Correzione Abbott (uova non fecondate)	EC 20 (%)	EC 50 (%)	Giudizio di tossicità
		replica							
		1	2	3					
Controllo		80	82	80	19	0			Assente
A5	100 50 25	61 71 77	65 70 78	64 72 78	37 29 22	21 12 4	89,7	>100	Bassa
A7	100 50 25	66 74 80	64 76 80	66 73 79	35 26 20	19 8 1	>90	>100	Assente
A9	100 50 25	67 70 79	66 72 81	68 72 80	33 29 20	17 12 1	>90	>100	Assente
B6	100 50 25	75 80 80	74 79 80	74 79 81	26 21 20	8 2 0	>90	>100	Assente
B8	100 50 25	79 79 80	78 80 81	76 80 81	22 20 19	4 1 0	>90	>100	Assente
K1	100 50 25	76 78 80	75 78 80	76 80 81	24 21 20	6 2 0	>90	>100	Assente
K4	100 50 25	77 79 81	75 79 80	75 78 81	24 21 19	6 2 0	>90	>100	Assente

Per quanto concerne il saggio biologico di sviluppo (Tab. 3-IX), alla concentrazione del 100% negli elutriati estratti dai sedimenti A5, B8 e K4 è stata osservata un'inibizione rilevante dello sviluppo, interrotto allo stadio della gastrula. I valori degli EC50, relativi a a questi tre siti, hanno dimostrato la presenza di tossicità cronica di medio grado. Le riduzioni nelle percentuali dei plutei osservate nelle altre stazioni sono state determinate da una tossicità cronica bassa.

Analogamente all'estate 2009 (Fabi *et al.*, 2015), nell'inverno 2010 è stata confermata la presenza di tossicità cronica media degli elutriati estratti dai sedimenti B8 e K4 e la tossicità bassa in A7. La tossicità cronica di medio grado rilevata in A5 nell'ultimo survey sembra indicare che il miglioramento osservato nel 2009 in questo sito (tossicità cronica bassa) sia stato transitorio. La presenza di tossicità cronica bassa in K1, A9 e B6 nell'inverno 2010 ha dimostrato una lieve trasformazione positiva delle proprietà ecotossicologiche di questi sedimenti.

In fig. 3.20 sono riportate le tendenze di fecondazione e sviluppo (linee blu), osservate con le tre concentrazioni degli elutriati testati (100%, 50% e 25%) nell'inverno 2010. La linea rossa raffigura la percentuale di fecondazione o/e degli embrioni allo stadio di pluteo rilevata nel controllo.

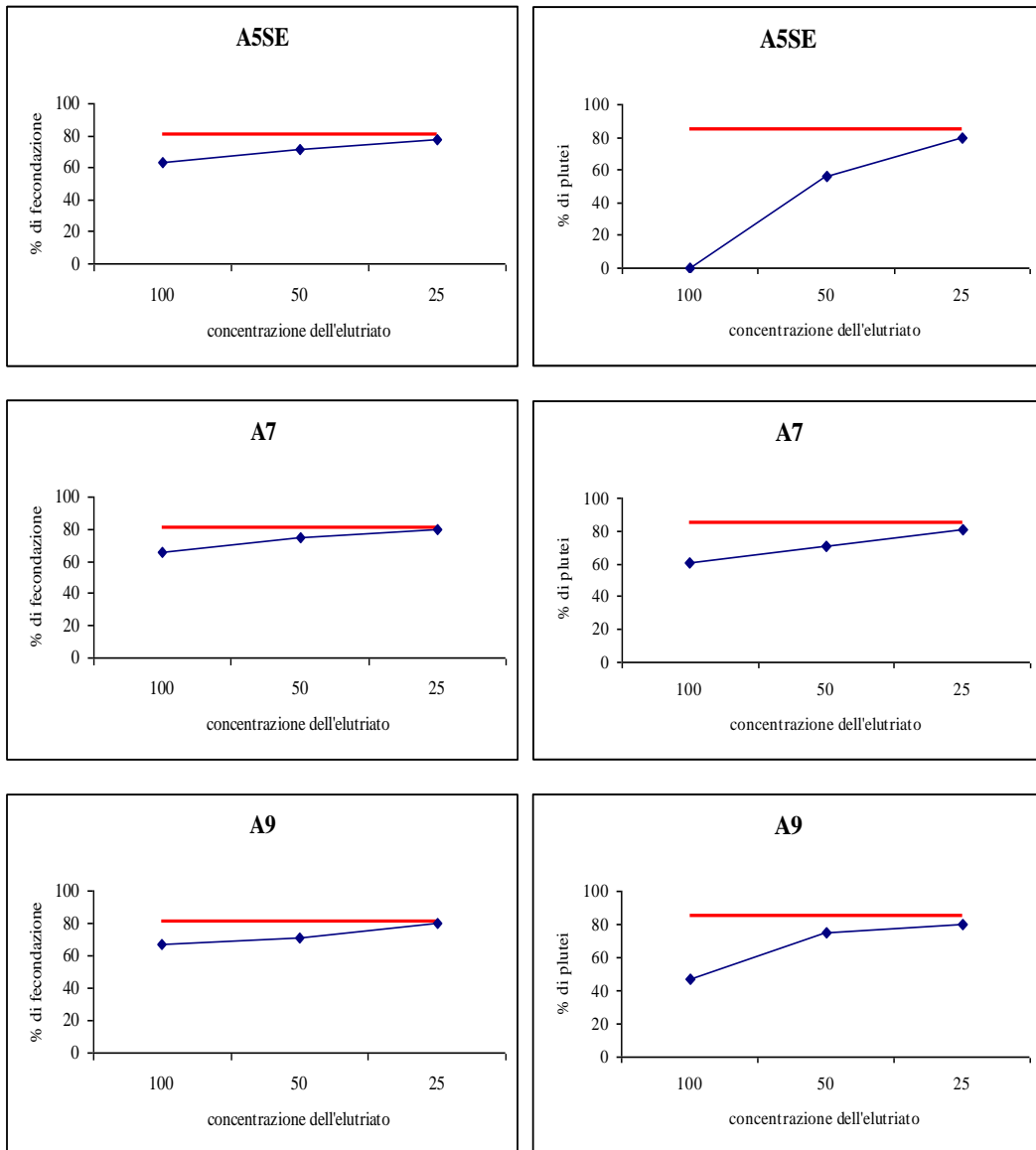
**Tab. 3-IX** - Risultati del test di sviluppo con il saggio biologico *P.lividus* nell'inverno 2010. In rosso è indicata la stazione situata sotto la piattaforma.

Campione	Concentrazione dell'elutriato (%)	% di plutei			Media degli embrioni non sviluppati	Correzione Abbott (embrioni non sviluppati)	EC 20 (%)	EC 50 (%)	Giudizio di tossicità
		replica							
		1	2	3					
Controllo		84	85	85	15	0			assente
A5	100 50 25	0 54 80	0 59 78	0 55 80	100 44 21	100 34 6	48	52,7	Media
A7	100 50 25	62 71 80	59 68 80	60 72 82	40 30 19	29 17 5	64,6	>100	Bassa
A9	100 50 25	48 76 81	46 74 80	48 74 80	53 25 20	44 12 5	63,8	>100	Bassa
B6	100 50 25	49 66 81	50 67 81	51 65 79	50 34 20	41 22 5	49,4	>100	Bassa
B8	100 50 25	0 60 82	0 64 80	0 64 80	100 37 19	100 26 5	49,2	54,3	Media
K1	100 50 25	62 75 83	65 73 82	64 75 83	36 26 17	25 12 2	79,4	>100	Bassa
K4	100 50 25	0 53 73	0 56 76	0 55 77	100 45 25	100 35 11	47,7	53,2	Media

Le linee che rappresentano l'esito della fecondazione in A5 e dello sviluppo in tutti gli elutriati si distaccano in modo evidente dalla retta di controllo, dimostrando una diminuzione rilevante delle percentuali degli zigoti e dei plutei negli elutriati alla concentrazione 100% rispetto al controllo negativo. Con le successive diluizioni (50% risp. 25%) degli elutriati le deviazioni diminuiscono.

## Fecondazione

## Sviluppo



**Fig. 3.20** – Tendenze di fecondazione e sviluppo (linee blu) osservate con le tre concentrazioni degli elutriati testati (100%, 50% e 25%) nell'inverno 2010. Le linee rosse indicano le percentuali di fecondazione (grafici a sinistra) e degli embrioni allo stadio di pluteo (grafici a destra) rilevate nel controllo negativo.



## Fecondazione

## Sviluppo

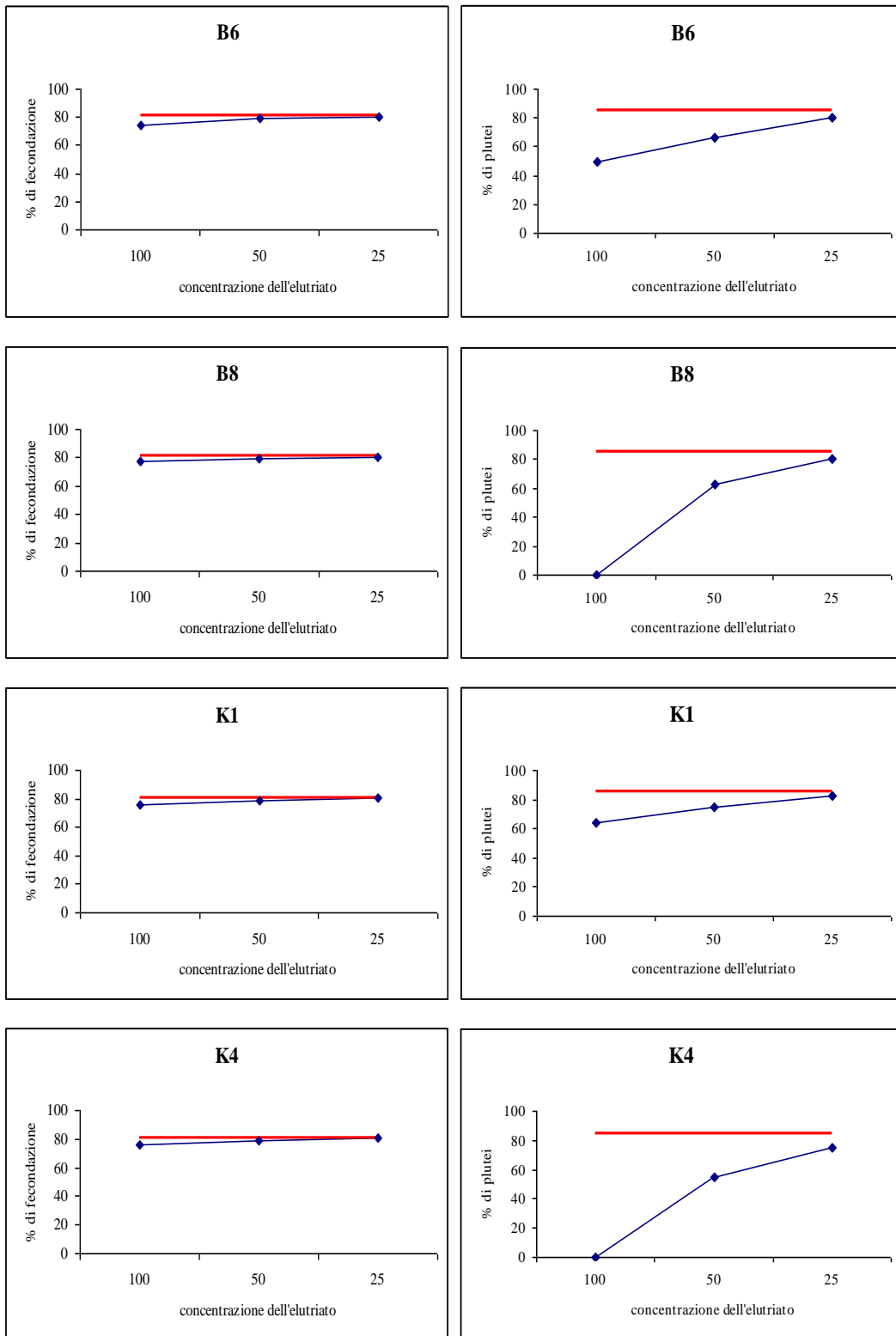


Fig. 3.20 – Continuo.

### 3.3.3. *HEDISTE DIVERSICOLOR*

In Tab. 3-X sono riportate le concentrazioni dei metalli ritrovate nei policheti dopo 28 gg di esposizione al sedimento da testare relative al monitoraggio effettuato nell'inverno 2010, mentre in Tab. 3-XI sono indicati i rapporti tra la concentrazione registrata negli organismi esposti al sedimento da testare e quella rilevata al tempo zero.

Il test con *H. diversicolor* non ha evidenziato fenomeni di bioaccumulo per **cadmio**, **rame** e **zinco** nei campioni analizzati poichè in tutte le stazioni, comprese quelle di controllo, i rapporti tra le concentrazioni nei tessuti dei policheti testati sui sedimenti e quelle al tempo 0 sono risultati <1. Ciò conferma quanto già evidenziato precedentemente per i primi due metalli, mentre quanto ottenuto per lo zinco indica un miglioramento rispetto all'estate 2009 (Fabi *et al.*, 2015). Anche per quanto concerne il **romo** non si osserva bioaccumulo, poichè la sua concentrazione nella quasi totalità dei campioni è risultata al di sotto del limite di quantificazione, come già osservato a partire dall'estate 2008 (Fabi *et al.*, 2015).

**Nichel** e **vanadio**, invece, hanno mostrato in tutte le stazioni concentrazioni maggiori rispetto a quelle misurate al tempo zero. E' da rilevare che entrambi i metalli erano risultati non rilevabili nelle due stagioni del 2009 (il vanadio anche in estate 2008; Fabi *et al.*, 2015).

Per il **mercurio** non sono stati evidenziati fenomeni di bioaccumulo nelle stazioni circostanti la piattaforma e nel controllo K1. In K4, invece, è stato osservato un bioaccumulo di modesta entità. Una situazione simile era stata registrata solo nell'inverno 2009; in tutti gli altri survey condotti dopo l'installazione di Tea il mercurio era risultato bioaccumulato ovunque (Fabi *et al.*, 2015).

Per quanto concerne il **piombo**, il test ha evidenziato un leggero bioaccumulo nelle stazioni circostanti la piattaforma ad esclusione di quella relativa alla struttura stessa (A5), dove è stata riscontrata una situazione analoga a quella dei controlli. Anche in estate 2009 A7 e A9 avevano presentato bioaccumulo, mentre le concentrazioni in B6 e B8 erano risultate inferiori a quelle del bianco (Fabi *et al.*, 2015). Pertanto, nell'ultimo campinamento viene confermata la situazione in A5 e lungo il transetto A; sono invece avvenuti un peggioramento lungo B e un miglioramento ai controlli.

**Tab. 3-X** - Concentrazioni dei metalli pesanti (mg kg<sup>-1</sup> s.s.) determinate nei tessuti di *H. diversicolor* nell'inverno 2010 presso la piattaforma Tea. T=0: tempo zero (organismi appena prelevati); In rosso è indicata la stazione della piattaforma. LDQ = limite di quantificazione.

Campione	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	V	Zn
T=0	0,3615	0,44	19,65	0,1370	1,33	0,56	0,31	160,91
<b>A5</b>	<b>0,1169</b>	<b>&lt; LDQ</b>	<b>15,15</b>	<b>0,1335</b>	<b>1,82</b>	<b>0,65</b>	<b>0,46</b>	<b>144,04</b>
A7	0,2895	< LDQ	10,20	0,1518	1,73	0,68	0,73	113,63
A9	0,2894	< LDQ	11,87	0,1625	2,30	0,72	0,81	131,16
B6	0,3011	< LDQ	11,90	0,1487	2,02	0,76	0,60	112,88
B8	0,3117	0,42	14,34	0,1538	2,55	0,68	0,72	153,93
K1	0,2995	< LDQ	11,03	0,1386	2,04	0,60	0,65	127,47
K4	0,3080	< LDQ	11,82	0,1780	2,48	0,63	0,66	129,42

**Tab. 3-XI** - Rapporto tra la concentrazione dei metalli pesanti rilevata nei tessuti degli organismi dopo l'esposizione ai sedimenti testati e la concentrazione rilevata negli organismi al tempo zero. In rosso è indicata la stazione della piattaforma. In grassetto sono evidenziati i valori  $\leq 1,20$ . nc = non calcolabile.

Campione	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	V	Zn
<b>A5</b>	<b>0,32</b>	<b>nc</b>	<b>0,77</b>	<b>0,97</b>	<b>1,37</b>	<b>1,16</b>	<b>1,50</b>	<b>0,90</b>
A7	0,80	nc	0,52	1,11	<b>1,30</b>	<b>1,21</b>	<b>2,39</b>	0,71
A9	0,80	nc	0,60	1,19	<b>1,73</b>	<b>1,29</b>	<b>2,63</b>	0,82
B6	0,83	nc	0,61	1,09	<b>1,52</b>	<b>1,35</b>	<b>1,95</b>	0,70
B8	0,86	0,95	0,73	1,12	<b>1,91</b>	<b>1,21</b>	<b>2,33</b>	0,96
K1	0,83	nc	0,56	1,01	<b>1,53</b>	1,08	<b>2,13</b>	0,79
K4	0,85	nc	0,60	<b>1,30</b>	<b>1,86</b>	1,13	<b>2,16</b>	0,80

### 3.4. RICERCA DI INQUINANTI IN *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

#### 3.4.1. BIOMARKERS

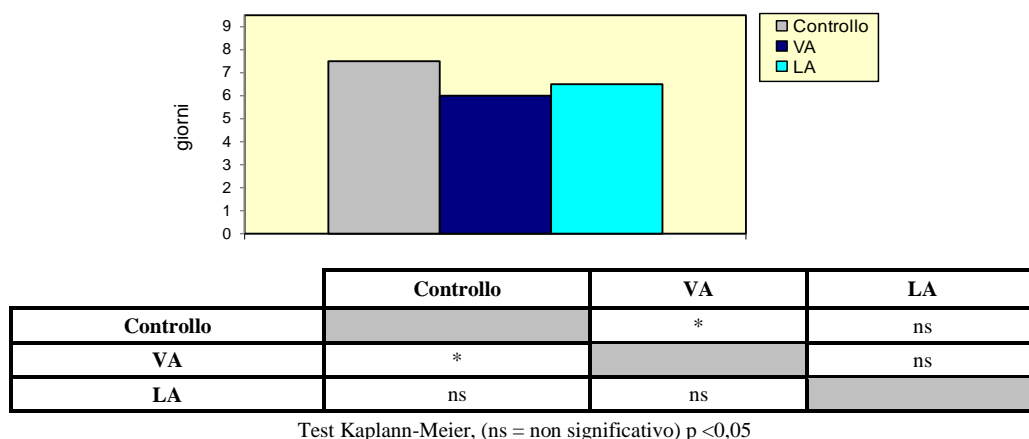
In Tab. 3-XII sono riportati i valori dei biomarkers analizzati nei mitili prelevati vicino (VA) e lontano (LA) dall'anodo di sacrificio della piattaforma Tea e nel sito di controllo nel corso dell'inverno 2010. Nella descrizione di ogni singolo biomarker vengono riportati i confronti statistici ottenuti esclusivamente per questo survey; per i risultati statistici dei precedenti monitoraggi effettuati consultare Fabi *et al.*, (2011a; 2011b; 2011c; 2015).

**Tab. 3-XII** - Valori medi dei biomarker ( $\pm$  d.s.) determinati nei mitili campionati nell'inverno 2010 nei siti di controllo, vicino (VA) e lontano (LA) dall'anodo di sacrificio di Tea.

Biomarker	Unità di misura	Controllo	VA	LA
Stress on Stress	LT50 (giorni)	7,5	6,0	6,5
Indice di Condizione	p.s. animale / p.s. conchiglia	0,23 $\pm$ 0,05	0,08 $\pm$ 0,09	0,09 $\pm$ 0,03
Micronuclei	frequenza ‰	1,0 $\pm$ 0,1	1,2 $\pm$ 0,3	1,4 $\pm$ 0,5
Lipidi neutri	densità ottica / pixels <sup>2</sup>	40234 $\pm$ 2285	43513 $\pm$ 3322	42190 $\pm$ 3124
Lipofuscine	densità ottica / pixels <sup>2</sup>	5810 $\pm$ 643	6340 $\pm$ 454	6204 $\pm$ 154
Stabilità lisosmiale	min	49,0 $\pm$ 2,5	35,0 $\pm$ 3,5	37,5 $\pm$ 5,0
Catalasi	mmol/min/mg di proteine	0,020 $\pm$ 0,003	0,028 $\pm$ 0,002	0,026 $\pm$ 0,004
Malodialdeide	nmol Mda g <sup>-1</sup> tessuto	29,0 $\pm$ 3,5	26,0 $\pm$ 6,5	24,8 $\pm$ 5,0
ALP ♂	µg fosfato mg <sup>-1</sup> di proteine	15,3 $\pm$ 3,6	12,0 $\pm$ 3,0	15,9 $\pm$ 4,0
ALP ♀	µg fosfato mg <sup>-1</sup> di proteine	44,1 $\pm$ 5,0	46,0 $\pm$ 4,3	40,0 $\pm$ 3,5
Metallotioneine	mmol/ml	102,9 $\pm$ 8,3	122,6 $\pm$ 9,3	103,4 $\pm$ 14,5
qPCR (MT <sub>10</sub> )	Threshold induction	1,00	1,12	1,19
qPCR (MT <sub>20</sub> )	Threshold induction	1,00	1,94	1,61

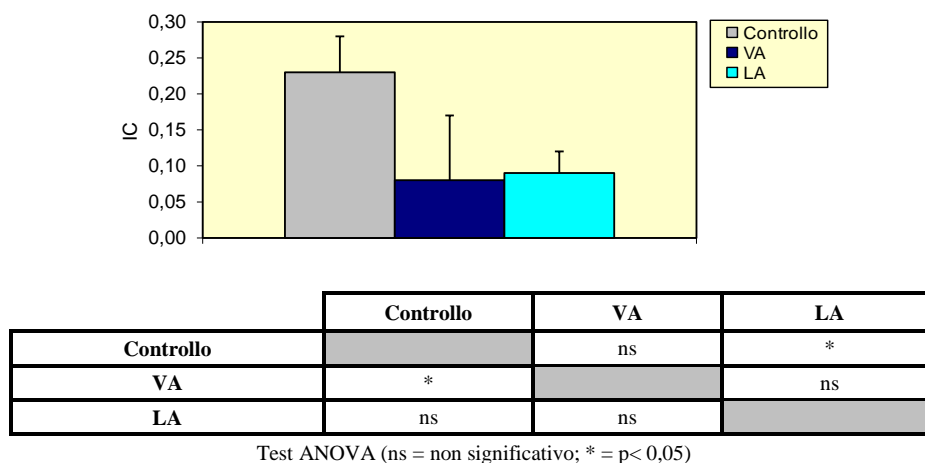
**Stress on stress** - I bivalvi prelevati nell'inverno 2010 hanno presentato una sopravvivenza all'aria compresa tra 6,0 (VA) e 7,5 gg (controllo). Solo presso il sito VA i bivalvi hanno evidenziato tempi di sopravvivenza statisticamente inferiori rispetto al controllo (fig. 3.21). Considerando l'intero periodo di indagine (Fabi *et al.*, 2015) è stato osservato un graduale decremento dei valori ovunque sino all'inverno 2009, una ripresa nell'estate seguente e una successiva lieve diminuzione nell'ultimo survey in tutti i tre siti di prelievo. Comunque, i tempi di sopravvivenza osservati sono simili, e in alcuni casi superiori, a quelli che emergono dai risultati di studi analoghi condotti in precedenza su piattaforme come PCMS-1 (Fabi *et al.*, 2005a), Calipso (Fabi *et al.*, 2006b), Naide (Fabi *et al.*, 2014),

Clara Nord (Fabi *et al.*, 2010b) e Clara Est (Fabi *et al.*, 2010c).



**Fig. 3.21** - Distribuzione dei tempi di sopravvivenza all'aria riscontrati negli esemplari di *M. galloprovincialis* prelevati nell'inverno 2010 presso la piattaforma Tea. VA = vicino anodo; LA = lontano anodo.

**Indice di condizione** – I mitili prelevati nel corso dell'ultimo campionamento hanno evidenziato valori medi compresi tra  $0,08 \pm 0,09$  e  $0,23 \pm 0,05$  (VA e controllo rispettivamente). Solo LA e controllo sono risultati significativamente diversi tra loro (fig. 3.22). La distribuzione dell'indice osservata tende a confermare gli andamenti rilevati sin dall'inverno 2008 (Fabi *et al.*, 2015).

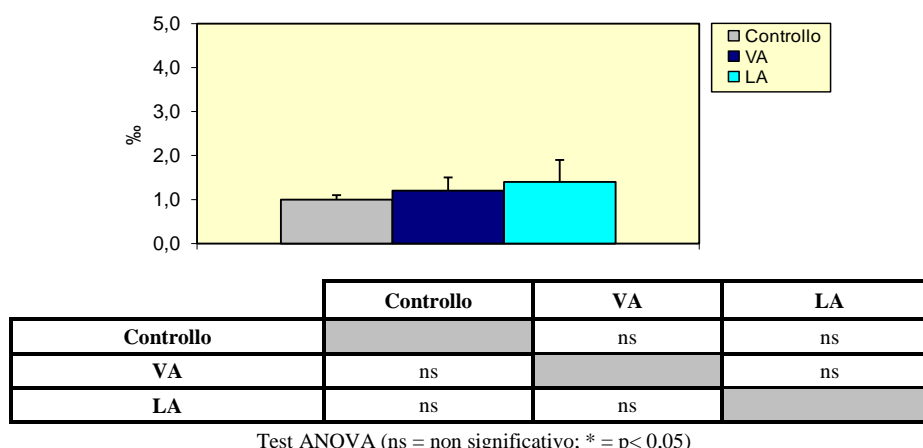


**Fig. 3.22** - Distribuzione dei valori medi dell'indice di condizione riscontrati negli esemplari di *M. galloprovincialis* prelevati nell'inverno 2010 presso la piattaforma Tea. VA = vicino anodo; LA = lontano anodo.

In generale, l'applicazione di tale indice fornisce un'informazione complessiva circa lo stato di salute dell'organismo (o della popolazione), rappresentando la somma dell'attività fisiologica dell'animale (crescita, riproduzione e secrezione). Il valore ricavato dà, infatti,

informazioni sulla massa corporea dell'individuo rispetto alla grandezza della conchiglia, ovvero nell'allocazione delle risorse energetiche dell'organismo (Orban *et al.*, 2002). Si è osservato che organismi in ambienti avversi impiegano parte delle risorse immagazzinate per controbilanciare l'effetto della forza stressante, quale essa sia, a discapito della crescita in massa corporea (Lucas e Beninger, 1985). La distribuzione evidenziata nel corso di questo studio tende, quindi, ad evidenziare una moderata alterazione negli organismi prelevati dal sito LA. L'entità delle differenze riscontrate tra Tea e il controllo non indicano, tuttavia, una risposta fisiologica particolarmente intensa (Pampanin *et al.*, 2005); i valori rilevati risultano, inoltre, comparabili a quelli riscontrati nelle precedenti attività di monitoraggio su analoghe strutture estrattive (Fabi *et al.*, 2004a; 2005a; 2005b; 2006b; 2010b; 2010c).

**Micronuclei** – I risultati relativi all'inverno 2010 hanno evidenziato una distribuzione di frequenze omogenea tra i siti investigati e compresa tra  $1,0 \pm 0,1\%$  del controllo e  $1,4 \pm 0,5\%$  per i bivalvi prelevati da LA (fig. 3.23).

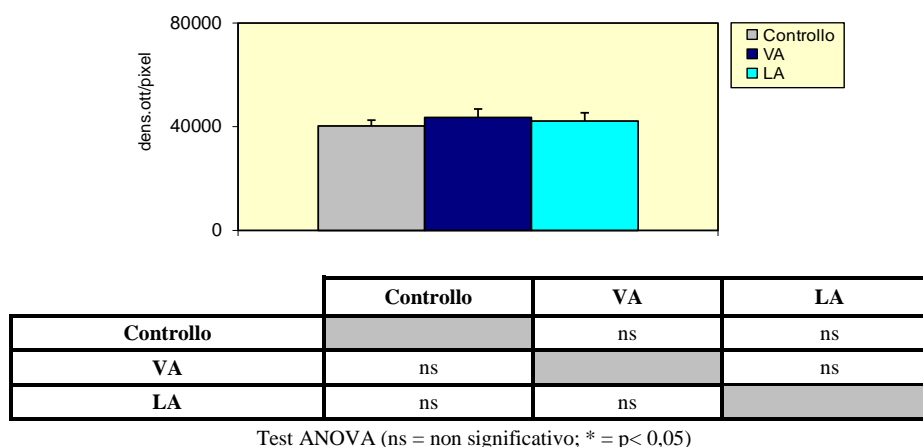


**Fig. 3.23** - Distribuzione della frequenza media di micronuclei riscontrati nell'emolinfa di esemplari di *M. galloprovincialis* prelevati nell'inverno 2010. VA = vicino anodo; LA = lontano anodo.

In modo analogo, frequenze omogeneamente distribuite in tutti i siti investigati erano state evidenziate sin dall'inverno 2008 (Fabi *et al.*, 2015). Ciò tende nel complesso a confermare una scarsa genotossicità. In conclusione, le frequenze finora rilevate nei mitili prelevati presso Tea appaiono estremamente contenute rispetto a quanto riportato per aree interessate da fenomeni d'inquinamento più marcati (Bolognesi *et al.*, 1996; 2004). I valori ottenuti sono confrontabili con risultati di precedenti biomonitoraggi ambientali in aree

costiere interessate da una scarsa pressione antropica (Bolognesi *et al.*, 2004; Daillanis *et al.*, 2003) e su analoghe piattaforme metanifere (Fabi *et al.*, 2004a; 2005a; 2005b; 2006b; 2010b; 2010c; 2014).

**Lipidi neutri** - Lo studio della distribuzione dei livelli di lipidi neutri nell'inverno 2010 ha riportato livelli omogenei in tutti i siti investigati (fig. 3.24).

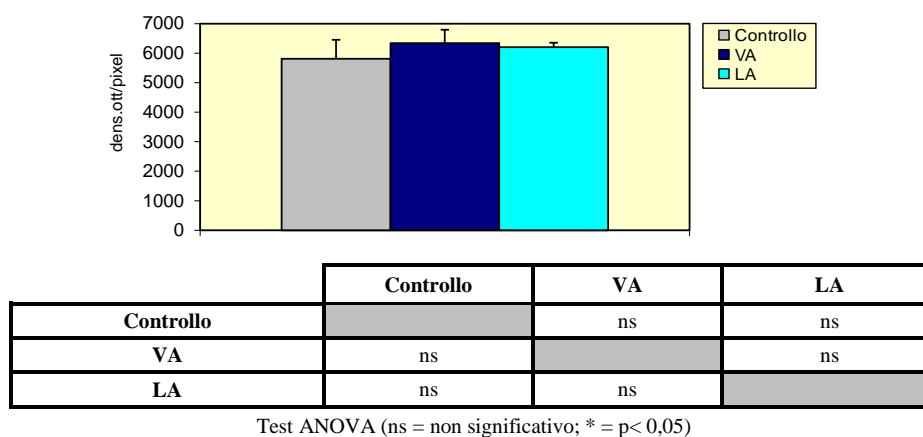


**Fig. 3.24** - Valori medi di accumulo di lipidi neutri espressi in unità di densità ottica associate ai lisosomi della ghiandola digestiva di esemplari di *M. galloprovincialis* prelevati nell'inverno 2010 presso la piattaforma Tea. VA = vicino anodo; LA = lontano anodo.

Tale andamento conferma quanto osservato nel corso del 2009 e nell'inverno 2008 (Fabi *et al.*, 2015), quando in tutti i casi i livelli di accumulo intra-lisosomiale nei bivalvi prelevati presso i siti della piattaforma erano risultati comparabili con quelli osservati nei rispettivi controlli. Diversamente, nell'estate 2008 era stato osservato un aumento significativo seppur leggero presso il sito VA rispetto al controllo. In generale, l'andamento dell'indice tende a dimostrare una scarsa alterazione associata alla presenza di sostanze xeno-biotiche biodisponibili nell'ambiente marino investigato. L'effetto biologico legato a tali composti organici è, infatti, quello di alterare il normale metabolismo lipidico di un organismo marino ed indurre l'accumulo di specifiche classi di grassi insaturi. Confrontando i risultati ottenuti nel corso dell'ultimo survey con la più recente letteratura si evidenziano risposte nella norma e assimilabili ad organismi soggetti a una bassa pressione antropica (Fabi *et al.*, 2004a; 2005a; 2005b; 2006b; 2010b; 2010c; 2014).

**Lipofuscine** – I livelli di lipofuscine nei mitili prelevati nell'ultimo survey sono risultati compresi tra  $5810 \pm 643$  unità di densità ottica/pixel del sito di controllo e  $6340 \pm 454$  unità di densità ottica/pixel in LA, senza differenze significative tra i siti (fig. 3.25)

analogamente all'inverno 2008 (Fabi *et al.*, 2015). Nelle altre stagioni, invece, uno o entrambi i siti della piattaforma avevano presentato livelli significativamente più elevati del controllo.



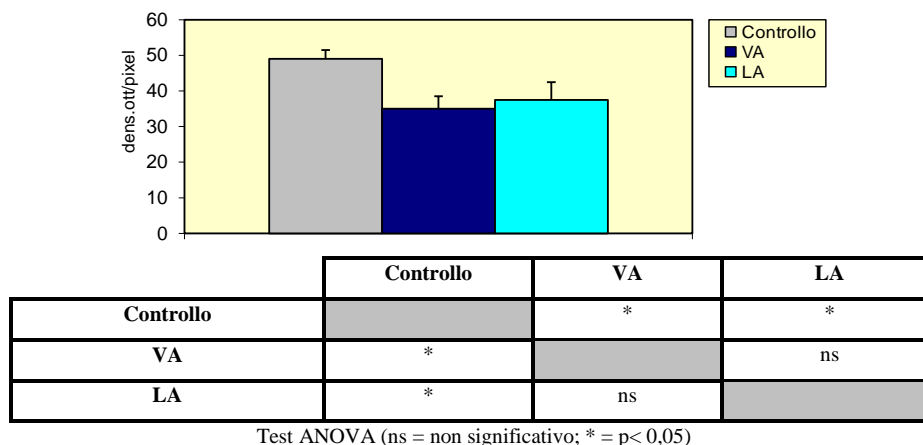
**Fig. 3.25** - Valori medi di accumulo di lipofuscine espressi in unità di densità ottica associate ai lisosomi della ghiandola digestiva di esemplari di *M. galloprovincialis* prelevati nell'inverno 2010 presso la piattaforma Tea. VA = vicino anodo; LA = lontano anodo.

I livelli medi assunti dal parametro portano a ipotizzare un leggero aumento nel tempo degli effetti tossici legati alla perossidazione di tessuti e/o strutture cellulari indotta dalla presenza di molecole organiche ossigeno-reattive nei tessuti degli organismi analizzati. I valori ottenuti, confrontati con quanto riportato in letteratura, sono tuttavia inferiori alle risposte biologiche evidenziate nel corso di precedenti esperienze di monitoraggio in aree costiere in Adriatico settentrionale (Petrovic *et al.*, 2004) o su analoghe piattaforme (Fabi *et al.*, 2004a; 2005a; 2005b; 2006b; 2010b; 2010c; 2014).

**Stabilità delle membrane lisosomiali** – Nell'inverno 2010 si sono evidenziati tempi medi di destabilizzazione compresi tra 49,0±2,5 min al controllo e 35,0±3,5 min nel sito VA. Analogamente a quanto osservato nel corso dei monitoraggi precedenti (Fabi *et al.*, 2015) entrambi i siti della piattaforma hanno presentato un decremento significativo della stabilità delle membrane lisosomiali rispetto agli organismi di riferimento (fig. 3.26). Pur osservando una leggera e continua alterazione negli organismi prelevati presso Tea, la risposta biologica finora osservata non porta ad evidenziare particolari criticità ambientali, poiché tempi compresi tra 40' e 60' sono tipici di organismi in buone condizioni di salute, mentre tempi progressivamente inferiori evidenziano un aumento della sindrome di stress. Confrontando quanto osservato con i risultati riportati in analoghe esperienze di monitoraggio, i tempi medi di destabilizzazione determinati nei bivalvi prelevati presso la

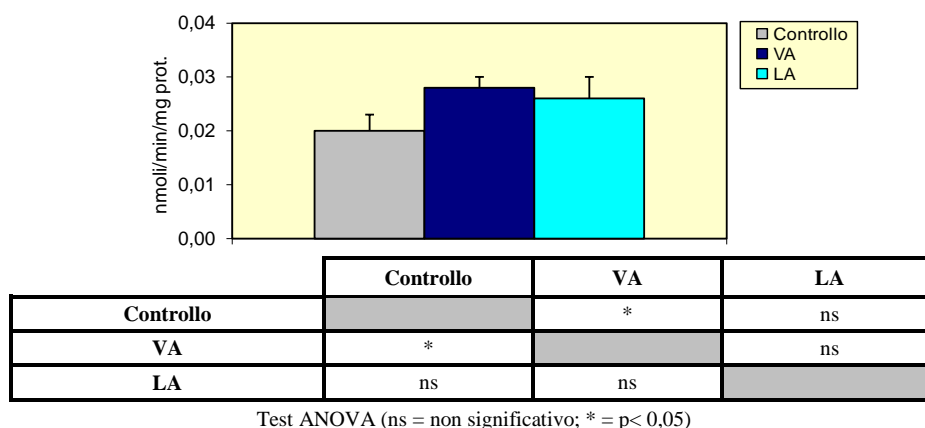


piattaforma Tea risultano superiori agli analoghi registrati in precedenti indagini ambientali su analoghe strutture estrattive (Fabi *et al.*, 2006b; 2010b; 2010c; 2014) e simili ad altre aree dell'alto Adriatico (Petrovic *et al.*, 2004, Gorbi *et al.*, 2008).



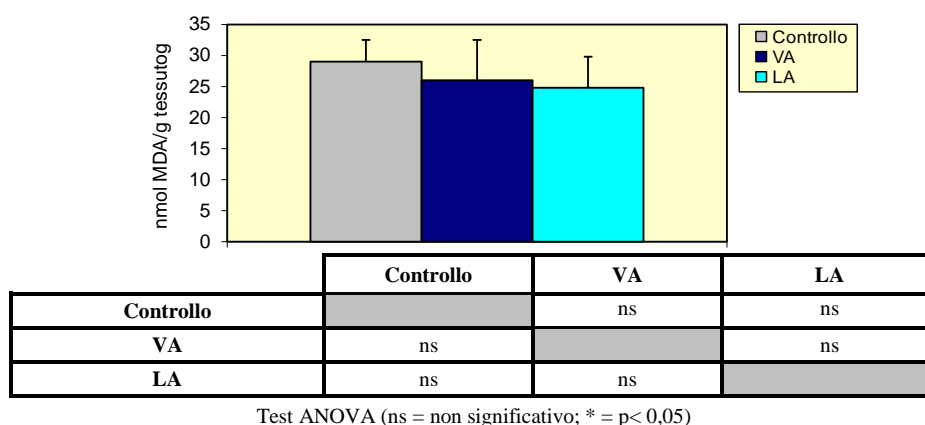
**Fig. 3.26** - Valori medi dei tempi di destabilizzazione espressi in min ed associati alla fragilità dei lisosomi della ghiandola digestiva di esemplari di *M. galloprovincialis* prelevati nell'inverno 2010 presso la piattaforma Tea. VA = vicino anodo; LA = lontano anodo.

**Stress ossidativo: determinazione dell'attività della catalasi** – L'attività di catalasi misurata nelle ghiandole digestive dei bivalvi prelevati presso i siti della piattaforma e nel controllo nell'inverno 2010 è risultata compresa tra  $0,020 \pm 0,003$   $\mu\text{moli/min mg}$  di proteine totali (controllo) e  $0,028 \pm 0,002$   $\mu\text{moli/min mg}$  di proteine totali (VA). Solo presso il sito più vicino all'anodo si è riscontrato un aumento significativo dei livelli di CAT rispetto al controllo (fig. 3.27). Diversa distribuzione, con livelli di attività omogenei in tutti i siti, era stata osservata nell'estate 2009 e in entrambi i monitoraggi del 2008, mentre nell'inverno 2009 il sito VA aveva presentato livelli significativamente superiori rispetto al controllo (Fabi *et al.*, 2015). Le risposte biologiche osservate nel corso dell'intero periodo di biomonitoraggio sono comparabili a quanto riportato per analoghe strutture estrattive (Fabi *et al.*, 2005b, 2006b; 2010b; 2010c; 2014), alla valutazione della qualità di aree marino-costiere e a recenti studi tesi a comprendere il normale andamento di questo parametro biochimico (Bocchetti e Regoli, 2006).



**Fig. 3.27** - Valori medi dell'attività di catalasi ( $\mu\text{mol}$  di catalasi/min.  $\text{mg}^{-1}$  proteine totali estratte) associata alla ghiandola digestiva di mitili (*M. galloprovincialis*) prelevati presso la piattaforma Tea nell'inverno 2010. VA = vicino anodo; LA = lontano anodo.

**Malondialdeide (MDA)** – I livelli medi determinati nell'ultimo survey sono risultati compresi tra  $24,8 \pm 5,0$  e  $29,0 \pm 3,5$  nmoli/g osservati rispettivamente presso il sito LA e nel controllo. In nessun caso sono state evidenziate differenze statisticamente tra i tre siti (fig. 3.28), analogamente ai precedenti monitoraggi invernali (Fabi *et al.*, 2015). Le stagioni estive del 2008 e 2009 sono invece risultate caratterizzate da livelli di MDA significativamente differenti rispetto al controllo in uno o entrambi i siti della piattaforma.

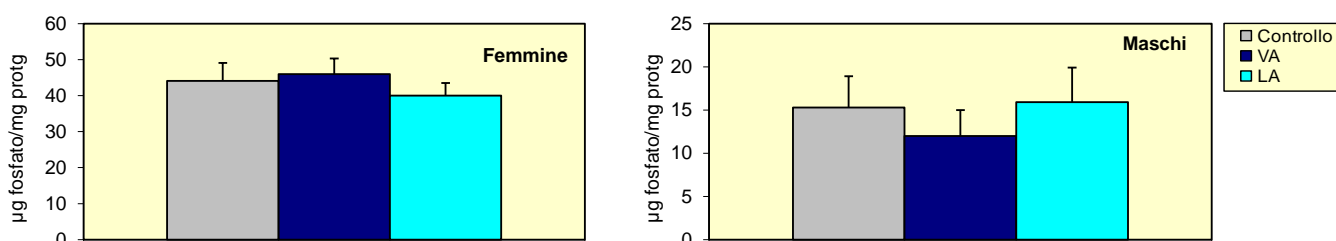


**Fig. 3.28** - Valori medi di MDA (Valori in nmoli di MDA/g di tessuto) associata alla ghiandola digestiva di mitili (*M. galloprovincialis*) prelevati presso la piattaforma Tea nell'inverno 2010. VA = vicino anodo; LA = lontano anodo.

Confrontando, infine, il trend temporale, si denota una fluttuazione stagionale con livelli medi generalmente superiori rilevati nel corso dei periodi freddi (Fabi *et al.*, 2015). In

conclusione, esaminati anche i risultati relativi alla determinazione delle attività di catalasi, si osserva la presenza, discontinua nel tempo, di un effetto biologico associato allo stress ossidativo. Tale forma di stress appare per lo più di tipo acuto (attività di catalasi) piuttosto che cronico (livelli citosolici di MDA) e comunque di intensità non preoccupante. Ciò viene confermato dal confronto con i dati riportati in letteratura che tende ad evidenziare valori superiori a quelli osservati sia in esperimenti di biomonitoraggio attivo con mitili (Viarengo *et al.*, 1991; Michael *et al.*, 1992) che su analoghe piattaforme (Fabi *et al.*, 2005b, 2006b; 2010b; 2010c; 2014).

**Alterazione dei sistemi endocrini: contenuto di fosfato alcalino-labile (ALP)** – In fig. 3.29 viene riportata la distribuzione dei valori di ALP stimati nelle gonadi e nel mantello degli esemplari raccolti nel corso dell’inverno 2010. Sia nelle femmine che nei maschi non sono state evidenziate differenze significative tra i bivalvi provenienti dai tre siti. Valori medi nel complesso simili a quelli ottenuti nell’ultimo survey sono stati registrati anche precedentemente (Fabi *et al.*, 2015). Come atteso, i livelli nei maschi restano sempre inferiori ai valori osservati dalle femmine. Infine, il rapporto tra i valori assunti dai due sessi nell’ambito di ogni singola stazione di campionamento ha permesso di confermare l’assenza di effetti estrogenici negli organismi analizzati, in quanto i valori assunti sono sempre risultati <1 (fig. 3.30).



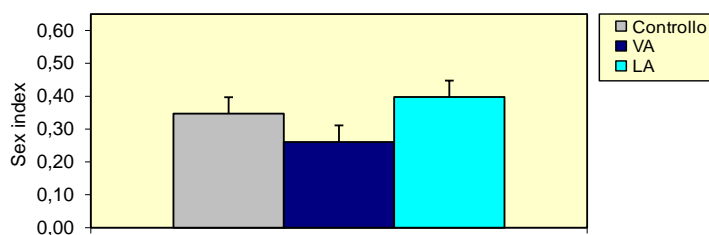
Femmine		Controllo	VA	LA
Controllo			ns	ns
VA		ns		ns
LA		ns	ns	

Test ANOVA (ns = non significativo; \* = p<0,05)

Maschi		Controllo	VA	LA
Controllo			ns	ns
VA		ns		ns
LA		ns	ns	

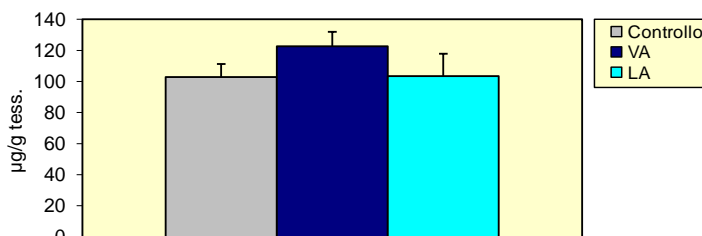
Test ANOVA (ns = non significativo; \* = p<0,05)

**Fig. 3.29** - Valori medi di MDA (µg fosfato libero/mg di proteine estratte) associata alla ghiandola digestiva di mitili (*M. galloprovincialis*) prelevati presso la piattaforma Tea nell’inverno 2010. VA = vicino anodo; LA = lontano anodo.



**Fig. 3.30** - Rapporto dei valori di vitellogenina assunti dagli esemplari maschi rispetto agli esemplari femmina nel corso dell'inverno 2010. VA = vicino anodo; LA = lontano anodo.

**Metallotioneine** – I livelli medi di metallotioneine relativi all'inverno 2010 sono risultati omogenei e compresi tra  $102,9 \pm 8,3$   $\mu\text{g MT/g}$  di tessuto (controllo) e  $122,6 \pm 9,3$   $\mu\text{g MT/g}$  (VA; fig. 3.31). Una distribuzione simile era stata osservata anche nell'inverno 2009, mentre nelle altre stagioni uno o entrambi i siti di Tea avevano presentato livelli maggiori rispetto al controllo (Fabi *et al.*, 2015). Quanto finora osservato, assieme ai risultati del primo anno di studio (inverno – estate 2008), evidenzia una significativa seppur leggera risposta biologica associata alla presenza di metalli pesanti nell'ambiente investigato. L'intensità delle risposte risulta, tuttavia, più contenuta rispetto a quanto osservato nel corso di studi analoghi (Fabi *et al.*, 2005b, 2006b; 2010b; 2010c; 2014).



	Controllo	VA	LA
Controllo		ns	ns
VA	ns		ns
LA	ns	ns	

Test ANOVA (ns = non significativo; \* =  $p < 0,05$ )

**Fig. 3.31** - Concentrazioni di Metallotioneine ( $\mu\text{g}$  di MT/g di tessuto) rilevate nella ghiandola digestiva dei mitili (*M. galloprovincialis*) prelevati presso la piattaforma Tea nell'inverno 2010. VA = vicino anodo; LA = lontano anodo.

**Real Time qPCR (Polymerase Chain Reaction)** - I risultati relativi al campionamento invernale del 2010 tendono a confermare una certa, seppur moderata, induzione del MT<sub>20</sub> in entrambi i siti della piattaforma (VA: 1,94 volte; LA: 1,61 volte) rispetto al controllo

(Up-regulation). Diversamente, l'MT<sub>10</sub> appare solo debolmente indotto in tutti i siti (controllo: 1,00; VA: 1,12; LA: 1,19).

Risposte genomiche simili erano state osservate nel 2009 (Fabi *et al.*, 2015). Diversamente, l'MT<sub>10</sub> nei medesimi organismi appariva solo debolmente indotto esclusivamente in inverno. L'espressione di quest'ultimo gene risulta correlata all'omeostasi di cationi tipicamente essenziali allo sviluppo e alla corretta funzionalità cellulare nel mitilo quali Ca, Mg, Zn, Fe e, in piccole quantità, Cu. Diversamente, il gene MT<sub>20</sub> risulta indotto in presenza di cationi non essenziali quali As, Be, Cd, Cs, Hg e Pb. Quanto osservato applicando tale tecnica tende a confermare i risultati del dosaggio dei livelli citosolici di metallotioneine e a dimostrare ulteriormente come l'aumento osservato sia da mettere in relazione alla presenza di metalli non essenziali. Ciò trova ulteriore riscontro anche nello studio dell'accumulo di elementi in traccia osservati nel corso del medesimo periodo di indagine (vedi Cap. successivo).

### **3.4.2. MATERIA ORGANICA ESTRATTA, BIOACCUMULO DI IDROCARBURI ALIFATICI, IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI E METALLI PESANTI**

**Materia organica estratta** - Le concentrazioni di materia organica estratta dai bivalvi prelevati nell'inverno 2010 sono risultate significativamente più elevate in LA rispetto al controllo (Tab. 3-XIII).

Tali valori sono risultati inferiori agli analoghi dell'estate 2009 ma sostanzialmente simili a quelli evidenziati nell'inverno dello stesso anno (Fabi *et al.*, 2015). Nel complesso la MOE, come l'indice di condizione, evidenzia l'abbondanza di lipidi nell'organismo, frazione organica importante in quanto comparto di accumulo di inquinanti chimici organici. I valori di MOE osservati sinora risultano confrontabili con quanto evidenziato in analoghe indagini condotte presso altrepiattaforme offshore dell'alto e medio Adriatico (Fabi *et al.*, 2005b, 2006b; 2010b; 2010c; 2014).

**Idrocarburi Alifatici** – Nell'inverno 2010 è stata evidenziata una somma di IA compresa tra 27,9±1,2 µg/Kg p.s. (controllo) e 30,6±1,5 µg/Kg p.s. (VA; Tab. 3-XIII). La distribuzione è pertanto risultata omogenea in tutti i tre siti come nell'inverno 2008 (Fabi *et al.*, 2015). Nelle altre stagioni, invece, erano stati riscontrati livelli di IA significativamente superiori in entrambi i siti di prelievo di Tea. Dai risultati ottenuti nel 2008 e 2009 è emerso un chiaro andamento stagionale, con livelli maggiori osservabili nei periodi estivi.

Quanto registrato nell'inverno 2010 tende a confermare questo andamento. I livelli finora evidenziati sono simili a quelli riportati per altre strutture offshore (Fabi *et al.*, 2005b; 2006b; 2010b; 2010c; 2014) e non rappresentano oggetto di alcuna criticità ambientale.

Gli indici di distribuzione (Tab. 3-XIV) riportano, per l'ultimo periodo d'indagine, il C<sub>27</sub> quale idrocarburo alifatico maggiormente accumulato (MH) nel controllo, mentre il C<sub>29</sub> e il C<sub>24</sub> sono stati i più abbondanti rispettivamente in VA e in LA.

**Tab. 3-XIII** - Materia organica estratta (MOE) e Idrocarburi Alifatici ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$  p.s.) rilevati nei tessuti dei mitili prelevati presso la piattaforma Tea e nel sito di controllo nell'inverno 2010. I risultati statistici si riferiscono al confronto tra i siti di Tea e il controllo. VA: vicino anodo; LA: lontano anodo.

	Controllo	VA	LA
MOE%	3,0 $\pm$ 0,3	3,6 $\pm$ 0,4	4,0 $\pm$ 0,5
<b>Test U</b>		ns	*
C15	0,3 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,1
C16	0,5 $\pm$ 0,2	0,4 $\pm$ 0,4	0,5 $\pm$ 0,1
C17	1,0 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,1
C18	0,6 $\pm$ 0,4	2,7 $\pm$ 0,3	2,4 $\pm$ 0,5
C19	0,1 $\pm$ 0,1	0, $\pm$ 0,5	0,3 $\pm$ 0,1
C20	1,3 $\pm$ 1,0	0,6 $\pm$ 0,1	1,4 $\pm$ 0,5
C21	0,2 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,5
C22	1,2 $\pm$ 0,3	1,2 $\pm$ 0,3	1,6 $\pm$ 0,5
C23	2,1 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,2	0,9 $\pm$ 0,1
C24	3,6 $\pm$ 1,3	3,8 $\pm$ 0,6	5,9 $\pm$ 0,5
C25	1,2 $\pm$ 0,5	5,1 $\pm$ 0,3	4,3 $\pm$ 0,5
C26	1,5 $\pm$ 0,9	< LOD	< LOD
C27	5,8 $\pm$ 0,5	0,2 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,6
C28	1,7 $\pm$ 0,3	2,2 $\pm$ 0,4	2,3 $\pm$ 1,8
C29	4,8 $\pm$ 0,5	5,8 $\pm$ 0,5	5,7 $\pm$ 0,5
C30	1,4 $\pm$ 0,2	0,9 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,2
C31	< LOD	4,5 $\pm$ 0,7	4,2 $\pm$ 0,9
Pristano	0,5 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,1	0,4 $\pm$ 0,1
Fitano	0,5 $\pm$ 0,1	0,3 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,1
<b><math>\Sigma_{IA}</math></b>	<b>27,9<math>\pm</math>1,2</b>	<b>30,6<math>\pm</math>1,5</b>	<b>30,4<math>\pm</math>1,9</b>
<b>Test U</b>		ns	ns

**Tab. 3-XIV** - Indici di distribuzione degli idrocarburi alifatici rilevati nei tessuti molli di mitili (*M. galloprovincialis*) prelevati presso la piattaforma Tea e nel sito di controllo nell'inverno 2010.

	Controllo	VA	LA
LMW/HMW	0,19	0,23	0,25
CPI (C <sub>-15/31</sub> )	1,87	1,53	3,67
C17/pristano	2,11	1,34	1,73
C18/fitano	1,34	6,86	4,80
MH	C <sub>27</sub>	C <sub>29</sub>	C <sub>24</sub>

Il rapporto LMW/HMW tra i valori assunti dalle n-paraffine a basso peso molecolare ( $C_{n<21}$ ), rispetto a quelle ad alto peso molecolare ( $C_{n>21}$ ) è apparso più elevato in LA (0,25), seguito da VA (0,23) e dal controllo (0,19). Dall'estate 2008 a quella del 2009 il massimo era stato registrato in VA, mentre nel primo campionamento (inverno 2008) era stato evidenziato nel controllo (Fabi *et al.*, 2015). Il valore maggiore del rapporto (2,49) era stato ottenuto nell'estate 2008 in VA, dimostrando una composizione di IA prevalentemente antropogenica nei bivalvi prelevati da quel sito. Escludendo tale eccezione, nel complesso sono sempre stati ottenuti valori inferiori all'unità, condizione utile per caratterizzare una situazione tendenzialmente naturale (National Research Council, 1989). Inoltre, nel tempo i rapporti hanno mostrato un leggero decremento dei contributi riconducibili a sorgenti antropogeniche, escludendo la presenza di particolari criticità a livello ambientale.

I rapporti dell'indice distributivo CPI (Carbon Preference Index, rapporto tra IA dispari/pari) relativi all'inverno 2010 hanno assunto valori compresi tra 1,53 in VA e 3,67 in LA. Esaminata nel suo complesso (Fabi *et al.*, 2015), la distribuzione dei valori di CPI tende a confermare un aumento nel tempo dei contributi di IA di origine naturale nei bivalvi finora esaminati, confermando quanto evidenziato dal rapporto LMW/HMW.

I valori dei rapporti n-C17/pristano e n-C18/fitano relativi all'inverno 2010 sono rispettivamente risultati compresi tra 1,34 (VA) e 2,11 (controllo) e tra 1,34 (controllo) e 6,86 (VA). Nell'intero periodo di studio (Fabi *et al.*, 2015) i rapporti ottenuti sono risultati comparabili, soprattutto quelli dell'estate 2008, con quanto osservato da Carro *et al.*, (2006) per bivalvi prelevati presso le coste galiziane caratterizzate da un significativo traffico navale e da diversi insediamenti industriali. Tale condizione tende ad evidenziare una moderata condizione di stress che rimane tuttavia localizzata nelle prime fasi del monitoraggio. Quanto sinora registrato indica una tendenziale diminuzione dell'apporto antropogenico nel tempo, come evidenziato dall'incremento dei valori del rapporto n-C17/pristano nei periodi estivi legato all'aumento del C17, un idrocarburo largamente presente nella distribuzione lipidica delle alghe (Gelpi *et al.*, 1970; Ahmed *et al.*, 1998).

Nel complesso, l'analisi specifica degli indici di distribuzione degli idrocarburi non ha evidenziato situazioni particolarmente critiche. La distribuzione dei livelli di IA e dei valori assunti dai rapporti di distribuzione esaminati nel corso dell'inverno 2010 sono paragonabili, e in molti casi inferiori, a quanto osservato in monitoraggi di zone marino-

costiere (Carro *et al.*, 2006; Lima *et al.*, 2007) o presso analoghe piattaforme (Fabi *et al.*, 2005b; 2006b; 2010b; 2010c; 2014).

**Idrocarburi Policiclici Aromatici** – I livelli di IPA determinati nei tessuti dei bivalvi campionati nell'inverno 2010 sono risultati compresi tra 74,4±6,0 ng/g (controllo) e 83,6±4,8 ng/g (VA; Tab. 3-XV), senza differenze statisticamente significative tra i siti. Valori nel complesso più moderati erano osservati nell'estate 2009, quando però l'accumulo in VA era apparso significativamente più elevato rispetto al controllo (Fabi *et al.*, 2015). Nelle precedenti stagioni, invece, erano stati registrati valori di IPA simili a quelli dell'ultimo survey.

**Tab. 3-XV** - Distribuzione degli Idrocarburi Policiclici Aromatici (ng/g p.s.) rilevati presso la piattaforma Tea e nel controllo nell'inverno 2010. I risultati statistici si riferiscono al confronto tra siti della piattaforma e controllo. VA: vicino anodo; LA: lontano anodo. \* <0,05.

Composti	Controllo	VA	LA
Naftalene	19,20±2,80	15,00±1,00	15,90±1,00
Acenaftene	4,20±0,70	8,0 ±0,8	6,50±0,70
Acenaftilene	4,90±1,40	4,2±1,00	4,90±1,00
Fluorene	4,00±1,20	4,90±0,90	5,50±1,00
Fenantrene	9,00±3,40	12,10±3,30	9,70±3,00
Antracene	5,30±1,10	5,40±1,00	5,60±1,10
Fluorantene	17,90±2,30	19,40±1,80	16,30±1,80
Pirene	4,10±2,20	5,30±1,70	5,90±1,70
B[a]Antracene	0,20±0,09	0,60±0,09	0,49±0,09
Crisene	0,49±0,09	0,78±0,09	0,58±0,09
B[b]Fluorantene	1,71±0,09	2,05±0,09	2,21±0,09
B[k]Fluorantene	0,17±0,01	0,20±0,10	0,24±0,02
B[a]Pirene	1,20±0,10	1,40±0,10	1,81±0,09
DiB[a,h]A	1,47±0,19	1,76±0,19	2,25±0,09
BghiPerilene	0,12±0,02	1,11±0,02	1,90±0,10
Indeno [c,d] pirene	0,01±0,00	0,01±0,00	0,01±0,00
$\Sigma_{ipa}$	<b>74,40±6,00</b>	<b>83,60±4,80</b>	<b>80,50±4,60</b>
Test U		ns	ns

Approfondendo la distribuzione dei 16 composti nell'inverno 2010, l'idrocarburo aromatico maggiormente presente tra quelli investigati è risultato il naftalene al controllo e il fluorantene in LA e in VA.

Confrontando i dati dell'intero periodo di indagine è possibile da una parte evidenziare una significativa, seppur limitata, variabilità stagionale nei livelli di accumulo di IPA, più



elevati in inverno e, dall'altra, un leggero decremento nel tempo dei valori determinati (Fabi *et al.*, 2015). Infine, da un confronto con quanto disponibile in letteratura, i valori determinati appaiono inferiori a quelli registrati in aree marine e marino-costiere soggette a un moderato impatto antropico e a quelli relativi ad altre piattaforme offshore (Lima *et al.*, 2007; Carro *et al.*, 2006; Fabi *et al.*, 2005b; 2006b; 2010b; 2010c; 2014).

**Metalli pesanti** – L'analisi dei livelli medi di metalli in traccia osservati nei tessuti degli organismi prelevati nell'inverno 2010 tendono a confermare il leggero aumento della biodisponibilità per i mitili della piattaforma rispetto a quelli di controllo già osservato nel corso dei survey precedenti (Fabi *et al.*, 2015).

Nel complesso, il metallo maggiormente bioaccumulato rimane lo **zinco**, che nell'inverno 2010 ha presentato differenze statisticamente significative tra piattaforma e controllo (Tabb. 3-XVI e 3-VII).

**Tab. 3-XVI** - Distribuzione dei metalli in traccia (mg/kg p.s.  $\pm$  ds) rilevati nei mitili (*Mytilus galloprovincialis*) campionati presso la piattaforma Tea e nel sito di controllo nell'inverno 2010. VA: vicino anodo; LA: lontano anodo.

	Controllo	VA	LA
Pb	0,11 $\pm$ 0,05	0,08 $\pm$ 0,03	0,11 $\pm$ 0,04
Zn	10,49 $\pm$ 1,20	17,91 $\pm$ 1,00	19,39 $\pm$ 1,10
Ni	0,12 $\pm$ 0,09	0,08 $\pm$ 0,08	0,16 $\pm$ 0,07
As	1,47 $\pm$ 0,10	2,83 $\pm$ 0,10	2,06 $\pm$ 0,20
Hg	0,18 $\pm$ 0,09	0,26 $\pm$ 0,06	0,20 $\pm$ 0,03
Cr tot	0,06 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,03
Cu	0,83 $\pm$ 0,01	0,99 $\pm$ 0,05	0,98 $\pm$ 0,05
Cd	0,06 $\pm$ 0,01	0,11 $\pm$ 0,01	0,22 $\pm$ 0,01

**Tab. 3-XVII** – Risultati dei confronti statistici relativi alla distribuzione dei metalli pesanti nei siti della piattaforma Tea rispetto al controllo (test U - Mann-Whitney). \* = p<0,05; ns = non significativo. VA: vicino anodo; LA: lontano anodo.

	Contr. vs VA	Contr. vs LA	VA vs LA
Pb	ns	ns	ns
Zn	*	*	ns
Ni	ns	ns	ns
As	*	*	*
Hg	ns	ns	ns
Cr tot	ns	ns	ns
Cu	*	*	ns
Cd	*	*	*

I contenuti di questo metallo sono sempre stati superiori in uno o entrambi i siti di Tea eccetto nell'estate 2008 e sempre con differenze statisticamente significative (Fabi *et al.*,

2015). I valori registrati nell'ultimo survey risultano comunque inferiori a quelli osservati presso Naomi-Pandora (Fabi *et al.*, 2005b), Calipso (Fabi *et al.*, 2006c), Clara Nord e Clara Est (Fabi *et al.*, 2010c; 2010bb).

Anche per il **piombo** sino all'estate 2009 sono sempre stati rilevati accumuli statisticamente superiori in uno o entrambi i siti della piattaforma (Fabi *et al.*, 2015).

Nell'inverno 2010, invece, non sono state riscontrate differenze significative tra i tre siti (Tabb. 3-XVI e 3-XVII). Da rilevare in quest'ultimo survey un decremento del piombo nei siti di Tea rispetto al periodo precedente (Fabi *et al.*, 2015). In generale, i livelli di accumulo osservati risultano inferiori a quelli presenti nei mitili prelevati da altre strutture offshore del medio e alto Adriatico (Fabi *et al.*, 2006b; 2010b).

Per quanto concerne il **nichel**, nell'inverno 2010 non sono state osservate differenze significative tra i tre siti (Tabb. 3-XVI e 3-XVII), analogamente all'estate 2008 e 2009 (Fabi *et al.*, 2015). Nelle due stagioni invernali, invece, i mitili prelevati da uno o entrambi i siti di Tea avevano presentato contenuti di Ni statisticamente superiori (2008) o inferiori (2009) rispetto al controllo. In tutti i tre siti le concentrazioni maggiori di nichel sono state rilevate nell'inverno 2009, dopo il quale è avvenuto un progressivo decremento senza però raggiungere i valori confrontabili con quelli del primo monitoraggio. Comunque, i livelli di Ni appaiono simili, o in alcuni casi inferiori, a quelli osservati in bivalvi prelevati presso analoghe strutture per l'estrazione di gas naturale nel mare Adriatico (Fabi *et al.*, 2002; 2003; 2005a; 2005b; 2006b; 2010b; 2010c; 2014).

L'**arsenico** nell'inverno 2010 è risultato significativamente più elevato in entrambi i siti della piattaforma rispetto al controllo, con il massimo in VA (Tabb. 3-XVI e 3-XVII). Anche nel 2008 e nell'inverno 2009 questo metallo era apparso maggiormente accumulato in uno o entrambi i siti della struttura, mentre nell'estate 2009 è stata riscontrata una distribuzione omogenea (Fabi *et al.*, 2015). Dopo un notevole incremento nell'inverno 2009 ovunque, l'arsenico si è ridotto nei siti della piattaforma nell'estate seguente. Nell'ultimo survey la riduzione è continuata in LA mentre in VA si è registrata una leggera recrudescenza. Comunque, le concentrazioni medie finora osservate sono simili a quelle riportate in precedenza per bivalvi prelevati presso analoghe strutture estrattive (Fabi *et al.*, 2002; 2003; 2005a; 2005b; 2006b; 2010b; 2010c; 2014) e in aree marino-costiere soggette ad un basso impatto antropico (Fattorini *et al.*, 2008).

Le concentrazioni di **mercurio** ottenute nell'inverno 2010 sono apparse omogenee (Tabb. 3-XVI e 3-XVII), analogamente a quanto riscontrato nei survey precedenti (Fabi *et al.*,

2015). Non sono state riscontrate neanche variazioni interstagionali. Nel complesso il contenuto di Hg negli organismi provenienti da Tea sono simili o in alcuni casi solo leggermente superiori a quelli evidenziati nelle analisi presso le piattaforme Naomi-Pandora (Fabi *et al.*, 2005b), Calipso (Fabi *et al.*, 2006b) e Naide (Fabi *et al.*, 2014).

I livelli di **chromo** sono risultati omogeneamente distribuiti nell'inverno 2010 analogamente a quanto osservato nell'estate 2008 e nell'inverno 2009 (Fabi *et al.*, 2011a; 2011b; 2011c; 2012). Nelle altre due stagioni, invece, erano risultati più contaminati i mitili provenienti dal controllo, in particolare nel 2009. In tutti i tre siti il cromo ha presentato un incremento nel 2009 e una leggera riduzione nell'ultimo campionamento; comunque, i valori osservati nell'intero periodo risultano confrontabili a quelli rilevati presso altre strutture offshore del medio e alto Adriatico (Fabi *et al.*, 2002; 2003; 2005a; 2005b; 2006b; 2010c; 2010c; 2014).

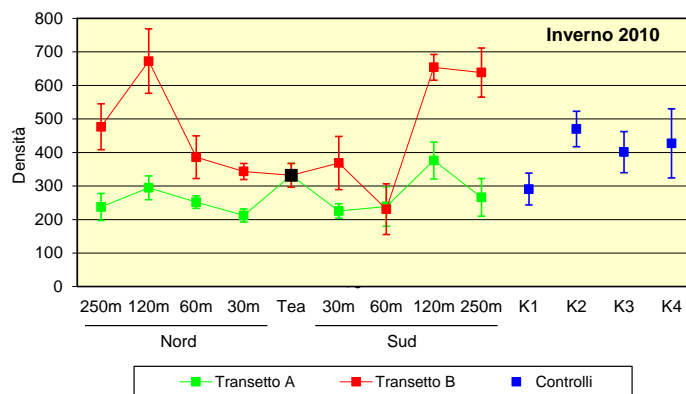
Nell'ultimo campionamento il **rame** è risultato maggiormente accumulato nei mitili provenienti da entrambi i siti della piattaforma (Tabb. 3-XVI e 3-XVII). Anche nei survey precedenti sono stati registrati livelli di accumulo significativamente superiori in uno o entrambi i siti di Tea, ad eccezione dell'inverno 2009 (Fabi *et al.*, 2015). Le massime concentrazioni sono state registrate ovunque nell'inverno 2008; nell'ultimo campionamento è avvenuto un incremento in tutti i tre siti che, comunque, non ha portato ai tenori registrati nel primo survey. In ogni caso, analogamente ai metalli precedentemente descritti, i valori medi finora osservati sono simili a quelli riportati per bivalvi prelevati presso analoghe strutture produttive e in aree marino-costiere (Fabi *et al.*, 2002; 2003; 2005a; 2005b; 2006b; 2010b; 2010c; 2014; Fattorini *et al.*, 2009).

Per quanto riguarda infine il **cadmio**, nell'inverno 2010 sono stati registrati livelli significativamente maggiori in entrambi i siti di Tea rispetto al controllo (Tabb. 3-XVI e 3-XVII), con LA statisticamente superiore anche a VA. Anche nelle due stagioni estive del 2008 e 2009 era risultato più contaminato il sito LA, mentre nelle due stagioni invernali era stata riscontrata una distribuzione omogenea del metallo (Fabi *et al.*, 2015). Nel tempo si è verificato un incremento di cadmio sia in VA che al controllo nell'inverno 2009 per poi rimanere stabile nell'estate seguente, mentre in LA l'aumento è avvenuto nell'estate 2008 e in quella del 2009. Nell'ultimo survey si è verificato solo un decremento in VA e controllo. Comunque, le concentrazioni osservate sono nel complesso inferiori a quelle evidenziate presso Calipso (Fabi *et al.*, 2006b), Naomi-Pandora (Fabi *et al.*, 2005b), Clara Est e Clara Nord (Fabi *et al.*, 2010b; 2010c).

### 3.5. INDAGINI SULLA COMUNITÀ BENTONICA

#### 3.5.1. DENSITÀ

Nell'inverno 2010 la comunità bentonica rinvenuta nei siti investigati è risultata piuttosto ricca in termini di numero di individui, analogamente a quanto rilevato sin dal pre-survey (fig. 3.32; Fabi *et al.*, 2015).



**Fig. 3.32** – Densità (n. ind  $0,095 \text{ m}^{-2} \pm \text{e.s.}$ ) registrate presso i siti monitorati nell'inverno 2010.

Per quanto concerne i transetti le densità maggiori sono state registrate lungo B eccetto a 60 m verso Sud rispetto a Tea (A7:  $238,9 \pm 58,8$  ind  $0,095 \text{ m}^{-2}$ ; B6:  $230,8 \pm 75,8$  ind  $0,095 \text{ m}^{-2}$ ). Il transetto A ha presentato un trend speculare rispetto alla piattaforma ( $331,8 \pm 35,5$  ind  $0,095 \text{ m}^{-2}$ ), con decrementi a 30 m, aumenti sino a 120 e nuove riduzioni a 250 m. Comunque, per la variabilità tra le repliche, ogni stazione è risultata comparabile almeno con altre due del medesimo transetto.

B ha mostrato un andamento differente, caratterizzato da alcune oscillazioni evidenti come, ad esempio, gli aumenti da B1 a B2 ( $476,6 \pm 68,5$  e  $672,5 \pm 96,3$  ind  $0,095 \text{ m}^{-2}$ , rispettivamente) e da B6 a B7 ( $654,0 \pm 38,4$  ind  $0,095 \text{ m}^{-2}$ ) o la riduzione da B2 a B3 ( $386,0 \pm 63,5$  ind  $0,095 \text{ m}^{-2}$ ). Valori simili tra loro sono stati invece registrati nel tratto B3-B6, inclusa la struttura.

I controlli K2, K3 e K4 hanno presentato densità omogenee, comprese tra  $401,2 \pm 61,4$  ind  $0,095 \text{ m}^{-2}$  (K3) e  $470,0 \pm 53,0$  ind  $0,095 \text{ m}^{-2}$  (K2), e superiori a quella di K1 ( $290,8 \pm 47,5$  ind  $0,095 \text{ m}^{-2}$ ). Tale variabilità tra i siti di riferimento ha fatto sì che tutte le stazioni lungo i transetti fossero comparabili con almeno uno di essi eccetto B2, B7, B8 e A4.

Rispetto al monitoraggio condotto nell'estate 2009 (Fabi *et al.*, 2015) non sono avvenuti sostanziali cambiamenti nelle densità del transetto A e dei controlli, tranne una riduzione in

A6 e K1. Quattro stazioni del transetto B (B1, B2, B4 e B8), invece, hanno presentato valori superiori a quelli estivi, mentre in Tea è avvenuto un decremento.

Per quanto concerne le densità dei singoli taxa, in tutti i siti inclusi i controlli le due specie principali sono state *Prionospio cirrifera* e *Paraonidae* nd (Tab. 3-XVIII), analogamente a quanto riscontrato anche nei due survey condotti nel 2009 (Fabi *et al.*, 2015). Solo in B2 e B7 ha prevalso *Ditrupa arietina*, presentando le densità in assoluto più elevate tra i taxa rinvenuti (250,9 ind 0,095 m<sup>-2</sup> e 232,0 ind 0,095 m<sup>-2</sup> rispettivamente). E' da evidenziare che questo polichete era stato censito sporadicamente anche nei due survey del 2009 e con densità decisamente basse, mentre nell'inverno 2010 è comparso ovunque eccetto in A6 e A9.

Anche i policheti Sabellidae nd hanno presentato densità degne di nota, nella maggior parte dei casi superiori a quelle dell'estate 2009. Una riduzione rispetto a quella stagione è stata invece evidenziata per *Aponuphis brementi*, un polichete che in estate aveva rappresentato la specie più abbondante da 30 a 120 m a NW di Tea e a 30 m a NE.









instabili, rappresentata però al massimo da 3 specie, e taxa di substrato duro e a larga ripartizione ecologica. Scarsamente presenti sono invece risultati gli organismi glareicoli e minuticoli.

**Tab. 3-XIX** – Affinità bionomica dei taxa determinati a livello di specie rinvenuti nell’inverno 2010. Per la legenda consultare la Tab. 3-XVIII.

	Tea	A1	A2	A3	A4	A6	A7	A8	A9	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	K1	K2	K3	K4
Substrato mobile non rinv. in letter. (Sm)	1	1	1	1	1	1		1	1	1		1	1				1			1	
Limicoli (Lim, VTC, VB)	17	21	21	18	19	14	18	19	18	19	18	16	15	17	19	17	21	15	20	20	18
Sabulicoli (Sab, SFBC, SFS)	9	14	11	10	9	10	11	8	10	13	14	12	13	13	12	12	15	13	12	13	15
Glareicoli (Glar)																1					1
Misticoli (Mixt, DC, DE, DL, SVMC)	5	11	14	5	11	9	7	7	11	8	11	8	7	6	14	12	13	9	10	11	13
Fondi Mobili Instabili (MI)	2	2	2	2	1	1	3	3	1	2	2	2	1	2	2	2	2	1	1	2	3
Minuticoli (Minut)				1			1	1							1		1		1	2	1
Indicatori di Materia Organica (MO)	8	11	6	8	9	7	8	7	8	9	9	8	6	10	9	8	8	9	9	9	7
Substrato duro (Sd, AP, C, HP)	4	2	2	3	3	5	2	3	2	4	3	1	4	3	5	2	5	2	1	1	4
Larga ripartizione ecologica (Lre)	7	4	5	3	3	4	4	5	2	4	3	2	5	5	1	5	4	2	6	4	2

### 3.5.3. DOMINANZA

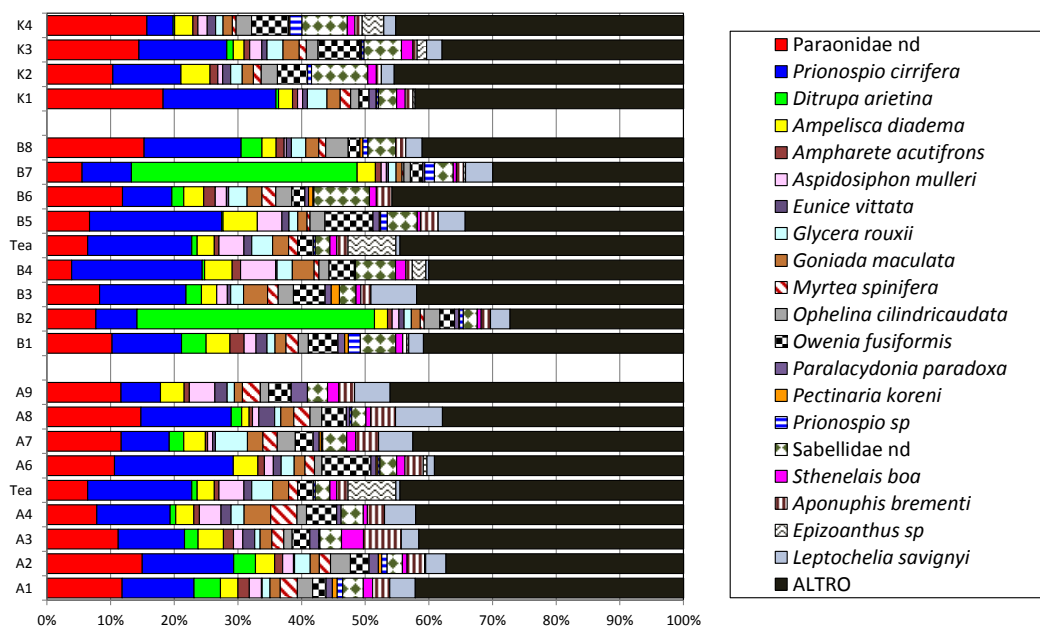
Per la rappresentazione grafica delle dominanze sono stati evidenziati i 20 taxa che complessivamente hanno costituito il 60% dell’intero popolamento rinvenuto nell’inverno 2010, includendo in “altro” tutto il resto (fig. 3.33).

Trattandosi di un numero cospicuo di specie, nel presente capitolo è stata posta l’attenzione sulla similitudine tra i vari siti determinata dalla distribuzione delle abbondanze tra le specie più che sulle variazioni di importanza di ciascun taxa tra un sito e l’altro.

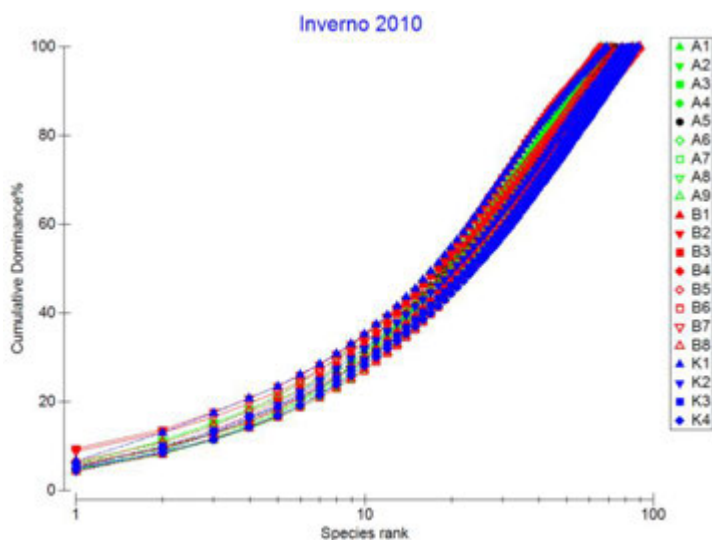
Innanzitutto, è stata confermata la complessità dei popolamenti rinvenuti in tutti i monitoraggi e in tutte le stazioni, costituiti per lo più da specie di secondaria importanza come suggerito dalle elevate percentuali della categoria “altro” (Fabi *et al.*, 2015). Inoltre, anche nell’inverno 2010 si è assistito a una grande omogeneità tra i siti, come evidenziato dalle curve di dominanza cumulativa (fig. 3.34).

Eccetto B2 e B7, in cui come descritto nel Cap. 3.5.1. si è assistito a una netta dominanza di *D. arietina* (37,3% e 35,5% rispettivamente), in tutti i siti sono risultati prevalenti i policheti Paraonidae nd e *Prionospio cirrifera*, con percentuali oscillanti tra il 6,4% (piattaforma) e il 18,2% (K1) e tra il 4,1% (K4) e il 20,7% (B5). Rispetto all’estate 2009 (Fabi *et al.*, 2015), le percentuali di questi due policheti sono aumentate praticamente ovunque, a scapito soprattutto di *A. brementi* e *Owenia fusiformis*. Da rilevare presso Tea

la dominanza dell'antozoo *Epizoanthus* sp (7,5%), seconda specie più importante dopo *P. cirrifera*.



**Fig. 3.33** – Valori percentuali di dominanza delle specie principali ottenuti nelle stazioni monitorate nell’inverno 2010.



**Fig. 3.34** - Curve di dominanza cumulativa ottenute nell’inverno 2010. A5 = piattaforma Tea.

### 3.5.4. RICCHEZZA SPECIFICA TOTALE

Nell’inverno 2010 sono stati censiti complessivamente 198 taxa, principalmente policheti (73), crostacei (51), molluschi (50) ed echinodermi (5; Tab. 3-XVIII).

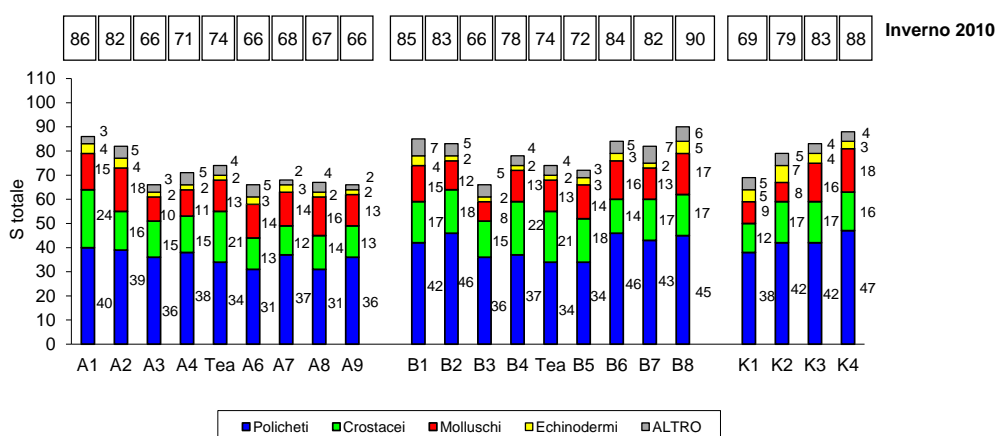
Si è dunque assistito a un lieve decremento rispetto all’estate 2009, quando era stata

registrata la presenza di 207 taxa, ma è avvenuto un aumento rispetto all'inverno dello stesso anno (179 taxa; Fabi *et al.*, 2015).

Nell'area circostante la piattaforma il valore più elevato di S è stato registrato in B8 (90) e il più basso (66) in A3, A6, A9 e B3 (fig. 3.35).

Il transetto A ha presentato maggiori oscillazioni a NW, dove S è variata tra 66 (A3) e 86 (A1). A SE, invece, l'indice è apparso più omogeneo essendo compreso tra 66 e 68. Il trend ha presentato un decremento sino ad A3, un aumento fino a Tea e una nuova riduzione in A6.

Lungo B, a parte B1 e B3, sono stati registrati valori sempre superiori a quelli di A a parità di distanza da Tea, soprattutto nel settore Sud, e l'andamento dell'indice è risultato più altalenante rispetto a quanto osservato per l'altro transetto. I controlli sono stati caratterizzati da una Ricchezza specifica totale compresa tra 69 (K1) e 88 (K4), range entro il quale si collocano la maggior parte dei siti dei transetti e la piattaforma.



**Fig. 3.35** - Ripartizione secondo il phylum di appartenenza delle specie rinvenute nelle singole stazioni nell'inverno 2010. Sono anche riportati i valori della Ricchezza specifica totale ottenuti per i vari siti (riquadri).

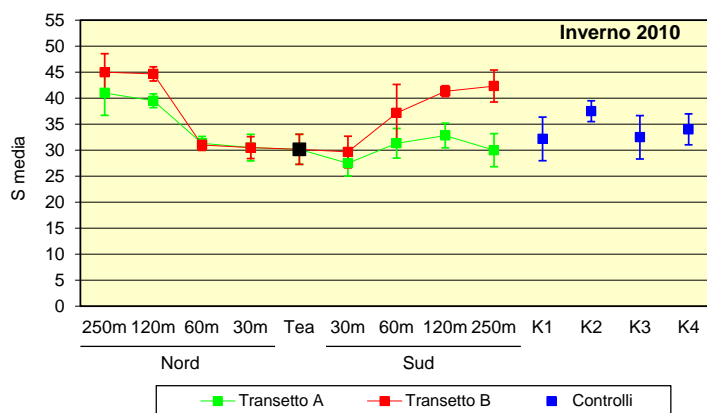
Analogamente a quanto osservato sin dal pre-survey (Fabi *et al.*, 2015), i policheti hanno rappresentato il gruppo principale in tutte le stazioni, seguiti dai crostacei e/o molluschi, mentre gli echinodermi, pur essendo stati censiti ovunque, sono stati rappresentati da un numero ridotto di specie.

Dal punto di vista qualitativo anche nell'inverno 2010 i popolamenti sono risultati abbastanza omogenei. Come nell'estate 2009 (Fabi *et al.*, 2015), la stazione con il più alto numero di specie esclusive è stata quella posta in corrispondenza di Tea (9, corrispondente al 12% del popolamento rinvenuto in questo sito; Tab. 3-XVIII), alcune delle quali

(*Balanus trigonus*, *Balanus perforatus*) legate alla presenza di substrati duri rappresentati ad esempio da valve di bivalvi.

### 3.5.5. RICCHEZZA SPECIFICA MEDIA

Gli andamenti della Ricchezza specifica media ottenuti per i due transetti nell'inverno 2010 sono risultati praticamente identici da 250 m a Nord sino a 30 m a Sud, essendo in questo tratto caratterizzati da un decremento a 60 m a Nord della piattaforma e da valori pressoché stabili alle altre distanze (3.36). Lungo A nelle restanti stazioni a Sud  $S_m$  si è mantenuta pressoché stabile, mentre lungo B è avvenuto un incremento che ha riportato B7 e B8 su valori confrontabili con quelli di B1 e B2. Lungo A, invece, entro un raggio di 60 m da Tea  $S_m$  è risultata comparabile nelle due direzioni, mentre a distanze maggiori sono stati ottenuti valori superiori a NW. E' stata riscontrata anche una buona omogeneità tra i due transetti eccetto in tre casi (120 m a Nord, 120 e 250 m a Sud) in cui sono risultati superiori i valori lungo B. Ai controlli  $S_m$  è variata tra  $32,2 \pm 4,2$  (K1) e  $37,5 \pm 2,0$  (K2), risultando pertanto simile a quella della maggior parte delle stazioni dei transetti.



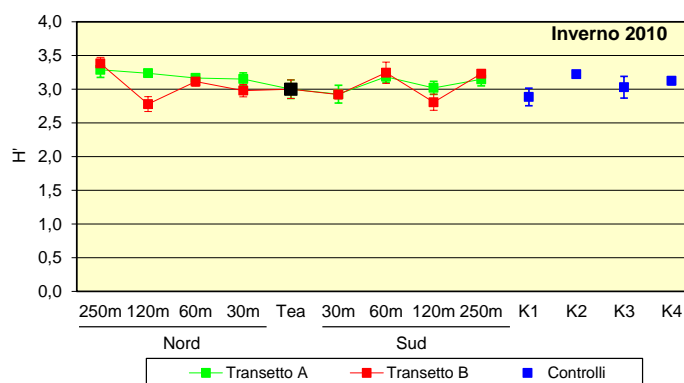
**Fig. 3.36** – Ricchezza specifica media ( $\pm$  e.s.) registrata presso i siti monitorati nell'inverno 2010.

### 3.5.6. DIVERSITÀ SPECIFICA

Nell'inverno 2010 i valori della Diversità specifica sono risultati elevati (fig. 3.37), confermando la presenza di un popolamento piuttosto diversificato in tutte le stazioni, caratterizzato da un buon numero di specie e da una ripartizione delle abbondanze tra le specie molto equilibrata (Fabi *et al.*, 2015).

Il transetto A ha presentato un andamento lievemente decrescente da A1 ( $3,289 \pm 0,114$ ) ad

A6 ( $2,927 \pm 0,132$ ), con una ripresa a 60 m a SE (A7:  $3,187 \pm 0,086$ ). Il transetto B è risultato invece meno lineare di A e speculare rispetto alla piattaforma, essendo caratterizzato da decrementi da 250 a 120 m, siti caratterizzati dall'elevata dominanza di *D. arietina*, e da aumenti a 60 m da Tea. Una discreta omogeneità ha interessato il tratto B3-B5 ( $2,981 \pm 0,092 \leq H' \leq 3,115 \pm 0,069$ ). A parità di distanza dalla struttura i due transetti sono apparsi confrontabili eccetto a 120 a Nord. Presso i controlli l'indice è oscillato tra  $2,887 \pm 0,131$  (K1) e  $3,225 \pm 0,047$  (K2), presentando quindi un intervallo di valori simile a quello dei transetti.



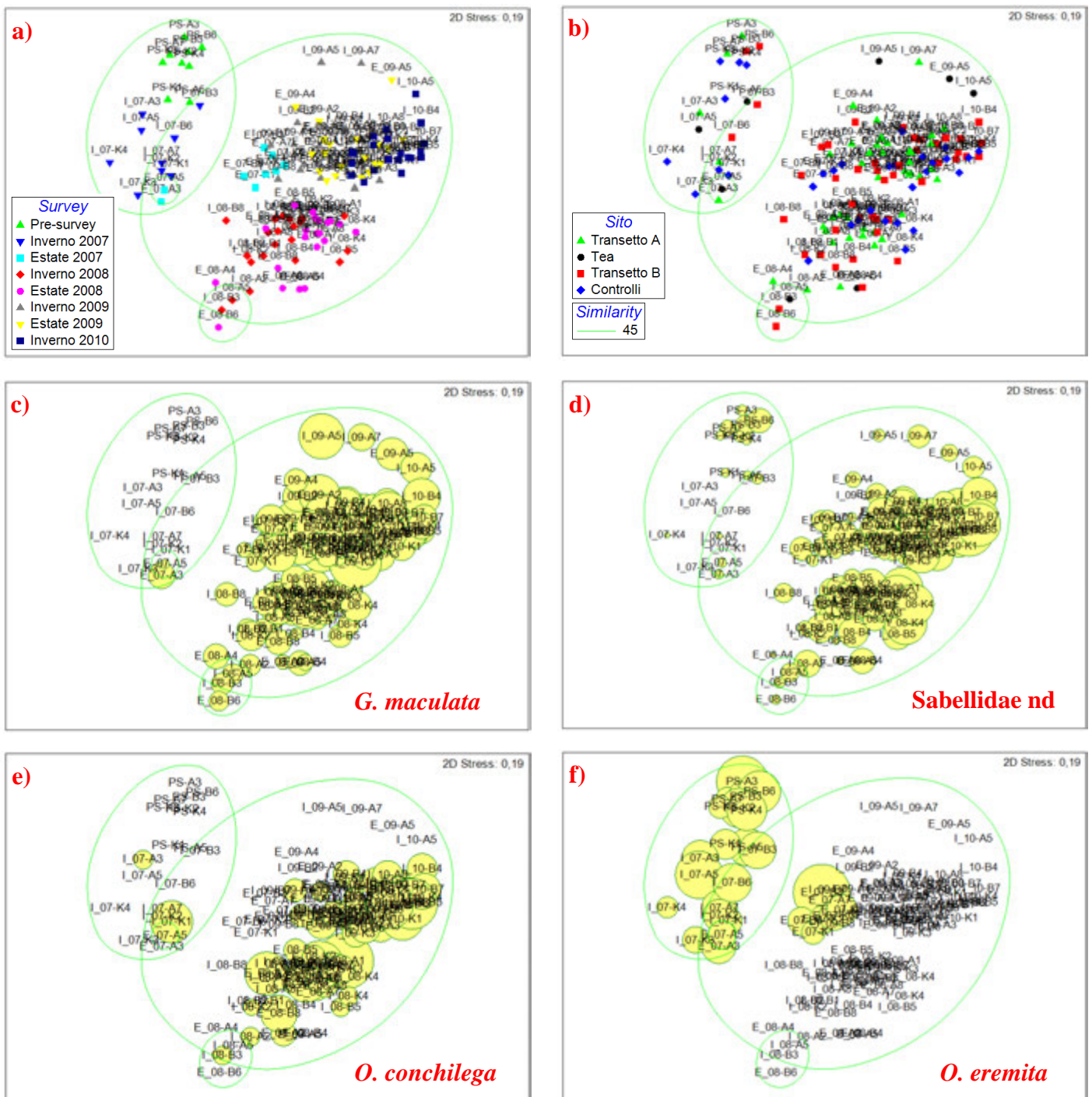
**Fig. 3.37** - Diversità specifica ( $\pm$  e.s.) registrata nelle stazioni monitorate nell'inverno 2010.

### 3.5.7. MULTIDIMENSIONAL SCALING

Il metodo del MultiDimensionalScaling, applicato ai dati di densità delle singole specie campionate nell'intero periodo di indagine, ha suddiviso i siti monitorati nei diversi survey in due cluster principali in parte sovrapposti, di cui uno più piccolo comprendente tutte le stazioni relative al pre-survey e all'inverno 2007 e l'altro tutti gli altri periodi, senza distinzioni tra transetti, controlli e sito della piattaforma (figg. 3.37a e 3.37b; similarità 45%). Tale separazione è stata causata dalla maggiore o esclusiva presenza di alcuni taxa nel cluster principale, come ad esempio *Goniada maculata*, Sabellidae nd e *Onuphis conchilega* (figg. 3.37c, 3.37d e 3.37e), e dai maggiori quantitativi di alcuni organismi come *Onuphis eremita* (fig. 3.37f) nei siti compresi nel cluster più piccolo.

L'MDS ha anche evidenziato la presenza di due piccoli cluster ciascuno contenente una sola stazione, di cui il primo inserito nel raggruppamento principale più piccolo e l'altro sovrapposto al raggruppamento principale più grande. Queste due stazioni (rispettivamente A3 campionata nell'estate 2007 e B6 campionata nell'estate 2008) si sovrappongono ai

cluster maggiori perché hanno in comune la maggior parte dei popolamenti, ma al tempo stesso se ne separano per quantitativi leggermente differenti delle specie più importanti.



**Fig. 3.37** – Rappresentazione bidimensionale ottenuta con il metodo dell’MDS dei siti campionati dal pre-survey (PS) all’inverno 2010. I cerchi gialli indicano le densità delle specie più rappresentative. I = inverno; E = estate.

### 3.5.8. VALUTAZIONE DELLO STATO DI STRESS DELLE COMUNITÀ

I valori dell'indice W sono sempre risultati superiori allo zero, indicando l'assenza di una vera e propria situazione di stress nel pre-survey, durante i lavori di installazione e nella fase di produzione della piattaforma Tea (Tab. 3-XX).

**Tab. 3-XX** - Valori dell'indice W ottenuti per i siti T e per i controlli dal pre-survey all'inverno 2010. In rosso il sito della piattaforma.

Sito	Pre-survey	Durante Lavori		Post Lavori				
		I-07	E-07	I-08	E-08	I-09	E-09	I-10
A1				0,329	0,493	0,266	0,421	0,190
A2				0,307	0,710	0,258	0,259	0,135
A3	0,545	0,422	0,282	0,326	0,536	0,340	0,410	0,363
A4				0,316	0,694	0,259	0,314	0,389
<b>A5</b>	<b>0,652</b>	<b>0,562</b>	<b>0,381</b>	<b>0,316</b>	<b>0,638</b>	<b>0,357</b>	<b>0,367</b>	<b>0,193</b>
A6				0,410	0,535	0,474	0,309	0,287
A7	0,586	0,479	0,365	0,252	0,626	0,389	0,350	0,277
A8				0,306	0,536	0,201	0,294	0,233
A9				0,289	0,507	0,298	0,242	0,322
B1				0,376	0,421	0,398	0,345	0,373
B2				0,224	0,648	0,242	0,322	0,027
B3	0,616	0,492	0,233	0,450	0,489	0,195	0,408	0,314
B4				0,363	0,553	0,337	0,354	0,306
<b>A5</b>	<b>0,652</b>	<b>0,562</b>	<b>0,381</b>	<b>0,316</b>	<b>0,638</b>	<b>0,357</b>	<b>0,367</b>	<b>0,193</b>
B5				0,420	0,551	0,401	0,239	0,184
B6	0,567	0,654	0,244	0,272	0,637	0,287	0,487	0,330
B7				0,328	0,444	0,303	0,164	0,235
B8				0,414	0,468	0,276	0,263	0,133
K1	0,356	0,520	0,272	0,128	0,449	0,263	0,228	0,134
K2	0,611	0,559	0,292	0,313	0,535	0,259	0,231	0,291
K3	0,692	0,603	0,242	0,358	0,409	0,181	0,131	0,263
K4	0,607	0,699	0,211	0,313	0,502	0,296	0,295	0,257

E' da rilevare che sino all'estate 2007, ovvero nel pre-survey e durante i lavori di installazione, sia nella maggior parte delle stazioni campionate in quel periodo e poste nell'area circostante la struttura che in due siti di controllo (K2 e K3), l'indice aveva mostrato una riduzione nel tempo e valori confrontabili, suggerendo che l'aumento di disturbo subito dalle comunità fosse riconducibile, almeno in parte, a fattori ambientali naturali. Nell'inverno 2008 presso la struttura, in A7 e in K1 il trend aveva continuato a scendere, mentre nelle altre stazioni monitorate durante l'intero periodo si era assistito a degli incrementi più o meno lievi, indicando l'avvio a un recupero da parte delle comunità che era stato ampiamente confermato nell'estate 2008. Nell'inverno successivo è stata evidenziata una riduzione generale dei valori, sia nei due transetti che presso Tea; tuttavia tali valori, essendo tutti positivi, non hanno indicato la presenza di un evidente stato di stress per le comunità bentoniche. Inoltre è da sottolineare che la diminuzione di W è stata

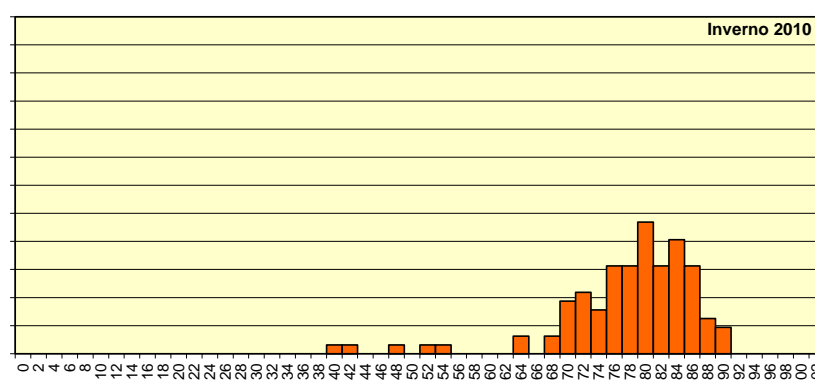
registrata anche in tutti i controlli, suggerendo che fosse correlata a cause naturali piuttosto che a qualche effetto legato alla presenza della piattaforma.

Nell'estate 2009 si sono avuti aumenti più o meno accentuati dell'indice in alcuni siti tra cui Tea e riduzioni in altri inclusi i controlli K1, K2 e K3. Nessuna variazione è stata invece osservata in A2 e in K4.

Nell'ultimo monitoraggio si è avuto un nuovo, generale peggioramento dell'indice, che non ha interessato solo pochi siti lungo i transetti e due controlli su 4, dove invece W è aumentato. Particolarmente evidente è apparso il decremento in A1, B2 e presso la piattaforma, dove è stato raggiunto il minimo assoluto per questo sito.

### 3.5.9. *Mytilus galloprovincialis*

Il campione di mitili prelevato nell'inverno 2010 da una superficie di 40x40 cm sulle parti sommerse della piattaforma aveva un peso fresco di 5,4 kg ed era costituito da 102 individui (6,4 ind dm<sup>-2</sup>) aventi lunghezza della conchiglia (LC) compresa tra 40 e 90 mm LC (fig. 3.38). Il 97% degli esemplari aveva superato la taglia minima commerciale di 50 mm LC. Analogamente a quanto osservato precedentemente (Fabi *et al.*, 2015), non è stato evidenziato un insediamento recente, quanto piuttosto un aumento di dimensioni della popolazione già osservata nei monitoraggi condotti a partire dall'inverno 2008. Ciò è confermato dalle taglie medie dei campioni passate da 49,1±0,6 mm LC nell'inverno 2008 a 77,5±0,9 mm LC in quello del 2010.



**Fig. 3.38** – Distribuzione di frequenza delle lunghezze degli esemplari di *M. galloprovincialis* prelevati nell'inverno 2010 sulle parti sommerse della piattaforma Tea.



### 3.6. INDAGINI SULLA COMUNITÀ ITTICA

#### 3.6.1. RICCHEZZA SPECIFICA E DIVERSITÀ SPECIFICA

Durante il primo semestre 2010 presso la piattaforma Tea sono state censite 26 specie di cui 21 pesci, 2 crostacei e 3 specie appartenenti al phylum dei molluschi (Tab. 3-XXI).

Nei siti di controllo sono state censite 19 specie presso il Controllo 1 (C1; 15 pesci 3 crostacei e 1 appartenente ai molluschi) e 21 presso il Controllo 2 (C2; 18 pesci e 3 crostacei; Tabb. 3-XXII e 3-XXIII).

Esclusivamente nella zona di mare circostante Tea sono state catturate 12 specie di cui 2 AT (*Scorpaena scrofa*, *Scorpaena porcus*), 7 PA (*Eledone moschata*, *Phycis phycis*, *Diplodus annularis*, *Pagellus bogaraveo*, *Boops boops*, *Sarda sarda* e *Trachurus trachurus*) e 3 NA (*Pecten jacobaeus*, *Sepia officinalis*, *Sardina pilchardus*), mentre le specie *Dromia personata*, *Aequipecten opercularis*, *Merluccius merluccius*, *Squalus acanthias*, *Serranus hepatus*, *Psetta maxima*, *Raja clavata*, *Scyliorhinus canicula*, *Squalus acanthias*, *Chelidonichthys lucerna*, *Lepidotrigla cavillone* e *Microchirus variegatus*, sono state catturate solo nei siti di riferimento. Le restanti specie sono state rilevate sia presso la piattaforma che in uno o entrambi i controlli (Tabb. 3-XI – 3-XIII).

La Ricchezza specifica ha assunto valori medi confrontabili tra la piattaforma ( $8,83 \pm 1,33$ ) e i due siti di controllo (C1:  $6,50 \pm 0,81$ ; C2:  $6,83 \pm 1,30$ ; Tab.3-XXIV), come evidenziato dall'analisi statistica (Tab. 2-XXV). Presso la piattaforma è stato registrato un incremento a febbraio seguito da una riduzione sino ad aprile, quando è stato ottenuto un valore identico a quello di gennaio (5; fig. 3.39). Nei mesi seguenti S è aumentata sino a raggiungere a giugno il massimo assoluto del semestre (13). I due controlli hanno presentato andamenti simili solo nei primi due mesi e tra marzo ed aprile, anche se in quest'ultimo caso l'incremento è stato molto più evidente in C2. C1 è stato caratterizzato da due aumenti, uno a febbraio e l'altro da marzo a maggio, i quali hanno portato a un valore di S identico (9) e corrispondente al massimo per questo sito. Sono state registrate anche due riduzioni a marzo e giugno. C2, invece, S è aumentata da gennaio sino ad aprile (con un'interruzione a marzo), si è ridotta a maggio ed è nuovamente aumentata a giugno. Presso la piattaforma sono stati raggiunti valori più elevati rispetto ai controlli da febbraio a marzo e da maggio a giugno.

Anche i valori medi di Diversità specifica sono risultati comparabili tra i tre siti (Tabb. 3-XXIV e 3-XXV). Presso la piattaforma sono stati ottenuti sempre valori inferiori a quelli di

uno o entrambi i controlli eccetto a giugno (fig. 3.40). Il minimo (0,21) è stato registrato a gennaio a causa delle elevate catture di *Trisopterus minutus capelanus* (Tab. 3-XXI). E' seguito un tendenziale aumento sino a giugno (0,87), interrotto solo ad aprile (0,52) quando *T. minutus* e *Pagellus erythrinus* hanno da soli costituito l'81% delle catture. In C1 H' è aumentato a febbraio e si è ridotto a marzo. Sono seguiti un incremento a maggio, che ha portato al massimo per questo sito (0,91), e un decremento a giugno (0,66) per le catture di *S. acanthias* e *R. clavata* (55% del totale; Tab. 3-XXII). In C2, infine, la Diversità specifica è aumentata sino ad aprile (0,91), si è ridotta a maggio, quando è stato raggiunto il valore più basso per questo sito (0,44) a causa dello scarso numero di specie (3), ed è di nuovo aumentata a giugno.

**Tab. 3-XXI** - Numero (n. ind/500m/12h) e peso (kg/500m/12h) delle singole specie catturate con i campionamenti di pesca effettuati nel I semestre 2010 presso la **piattaforma Tea**.

				Gennaio		Febbraio		Marzo		Aprile		Maggio		Giugno	
				N ind.	P (kg)	N ind.	P (kg)	N ind.	P (kg)	N ind.	P (kg)	N ind.	P (kg)	N ind.	P (kg)
Crostacei	<i>Maja squinado</i>	B	NA	2,87	1,63	1,86	0,75	2,86	1,50			3,16	1,76	9,45	4,89
	<i>Squilla mantis</i>	B	NA			9,30	0,41							3,78	0,12
<b>Crostacei Totale</b>				<b>2,87</b>	<b>1,63</b>	<b>11,16</b>	<b>1,16</b>	<b>2,86</b>	<b>1,50</b>			<b>3,16</b>	<b>1,76</b>	<b>13,23</b>	<b>5,01</b>
Molluschi	<i>Eledone moschata</i>	B	PA					1,43	0,59						
	<i>Pecten jacobaeus</i>	B	NA			1,86	0,15	1,43	0,20						
	<i>Sepia officinalis</i>	B	NA									1,58	0,41		
<b>Molluschi Totale</b>						<b>1,86</b>	<b>0,15</b>	<b>2,86</b>	<b>0,79</b>			<b>1,58</b>	<b>0,41</b>		
Pesci	<i>Scorpaena notata</i>	B	AT					4,29	0,21			3,16	0,24	13,23	0,69
	<i>Scorpaena porcus</i>	B	AT	2,87	0,75									3,78	0,76
	<i>Scorpaena scrofa</i>	B	AT											7,56	0,43
	<i>Phycis phycis</i>	B	PA											1,89	0,88
	<i>Solea solea</i>	B	NA			1,86	0,31			2,03	0,20	1,58	0,38	3,78	0,80
	<i>Trachinus draco</i>	B	NA							2,03	0,05	6,32	0,77		
	<i>Trigloporus lastoviza</i>	B	NA					1,43	0,16						
	<i>Diplodus annularis</i>	NB	PA											1,89	0,18
	<i>Pagellus bogaraveo</i>	NB	PA			1,86	0,09								
	<i>Pagellus erythrinus</i>	NB	PA			27,91	1,32	11,43	0,46	20,28	0,87	7,89	0,41	5,67	0,36
	<i>Trisopterus minutus capelanus</i>	NB	PA	104,91	4,11	87,44	4,62	31,43	2,40	32,45	2,63	26,84	1,86	26,46	1,15
	<i>Merlangius merlangus</i>	NB	NA			3,72	0,24								
	<i>Boops boops</i>	P	PA							8,11	0,84	6,32	0,60		
	<i>Sarda sarda</i>	P	PA											1,89	3,06
	<i>Scomber japonicus</i>	P	PA					4,29	1,26					43,46	12,98
	<i>Scomber scombrus</i>	P	PA	1,44	0,16			1,43	0,25						
	<i>Spicara maena</i>	P	PA	5,75	0,22	7,44	0,23								
	<i>Trachurus spp</i>	P	PA									1,58	0,24		
<i>Trachurus trachurus</i>	P	PA											1,89	0,13	
<i>Sardina pilchardus</i>	P	NA									1,58	0,05			
<i>Engraulis encrasicolus</i>	P	NA									31,58	0,33			
<b>Pesci Totale</b>				<b>114,97</b>	<b>5,24</b>	<b>130,23</b>	<b>6,81</b>	<b>54,30</b>	<b>4,74</b>	<b>64,90</b>	<b>4,59</b>	<b>86,85</b>	<b>4,88</b>	<b>111,50</b>	<b>21,42</b>
<b>Totale complessivo</b>				<b>117,84</b>	<b>6,87</b>	<b>143,25</b>	<b>8,12</b>	<b>60,02</b>	<b>7,03</b>	<b>64,90</b>	<b>4,59</b>	<b>91,59</b>	<b>7,05</b>	<b>124,73</b>	<b>26,43</b>

**Tab. 3-XXII** - Numero (n. ind/500m/12h) e peso (kg/500m/12h) delle singole specie catturate con i campionamenti di pesca effettuati nel I semestre 2010 presso il controllo 1 (C1).

				Gennaio		Febbraio		Marzo		Aprile		Maggio		Giugno	
				N ind.	P (kg)	N ind.	P (kg)	N ind.	P (kg)	N ind.	P (kg)	N ind.	P (kg)	N ind.	P (kg)
Crostacei	<i>Calappa granulata</i>	B	NA			2,84	0,48								
	<i>Maja squinado</i>	B	NA	5,82	2,06	1,42	0,94	1,45	0,67	2,52	1,28	1,55	0,71	8,70	4,28
	<i>Squilla mantis</i>	B	NA			8,52	0,37					3,11	0,13	8,70	0,43
<b>Crostacei Totale</b>				<b>5,82</b>	<b>2,06</b>	<b>12,78</b>	<b>1,79</b>	<b>1,45</b>	<b>0,67</b>	<b>2,52</b>	<b>1,28</b>	<b>4,66</b>	<b>0,84</b>	<b>17,40</b>	<b>4,71</b>
Molluschi	<i>Aequipecten opercularis</i>	B	NA									1,55	0,10		
<b>Molluschi Totale</b>												<b>1,55</b>	<b>0,10</b>		
Pesci	<i>Chelidonichthys lucerna</i>	B	NA			5,68	0,60	1,45	0,19					3,48	7,65
	<i>Lepidotrigla cavillone</i>	B	NA							2,52	0,06	1,55	0,02		
	<i>Microchirus variegatus</i>	B	NA									3,11	0,12		
	<i>Psetta maxima</i>	B	NA							2,52	7,57				
	<i>Raja clavata</i>	B	NA											13,91	37,91
	<i>Solea solea</i>	B	NA	1,45	0,26	7,10	0,80	2,89	0,53	2,52	0,68	4,66	0,65		
	<i>Trachinus draco</i>	B	NA	1,45	0,12										
	<i>Squalus acanthias</i>	B	NA					1,45	2,08	10,10	10,94	1,55	0,47	12,17	9,96
	<i>Serranus hepatus</i>	NB	PA			1,42	0,03								
	<i>Trisopterus minutus capelanus</i>	NB	PA	1,45	0,09	2,84	0,11	1,45	0,06						
	<i>Merlangius merlangus</i>	NB	NA			1,42	0,14								
	<i>Merluccius merluccius</i>	NB	NA									1,55	0,32		
	<i>Engraulis encrasicolus</i>	P	NA			14,20	0,15					1,55	0,02		
	<i>Scomber scombrus</i>	P	PA	4,36	0,58										
<i>Spicara maena</i>	P	PA								2,52	0,02				
<b>Pesci Totale</b>				<b>8,71</b>	<b>1,05</b>	<b>32,66</b>	<b>1,83</b>	<b>7,24</b>	<b>2,86</b>	<b>20,18</b>	<b>19,27</b>	<b>13,97</b>	<b>1,60</b>	<b>29,56</b>	<b>55,52</b>
<b>Totale complessivo</b>				<b>14,53</b>	<b>3,11</b>	<b>45,44</b>	<b>3,62</b>	<b>8,69</b>	<b>3,53</b>	<b>22,70</b>	<b>20,55</b>	<b>20,18</b>	<b>2,54</b>	<b>46,96</b>	<b>60,23</b>

**Tab. 2-XL** - Numero (n. ind/500m/12h) e peso (kg/500m/12h) delle singole specie catturate con i campionamenti di pesca effettuati nel I semestre 2010 presso il controllo 2 (C2).

				Gennaio		Febbraio		Marzo		Aprile		Maggio		Giugno	
				N ind.	P (kg)	N ind.	P (kg)	N ind.	P (kg)	N ind.	P (kg)	N ind.	P (kg)	N ind.	P (kg)
Crostacei	<i>Dromia personata</i>	B	AT							13,91	1,98				
	<i>Maja squinado</i>	B	NA	1,44	0,30	2,89	1,14	2,84	1,16	13,91	6,96	3,36	1,52		
	<i>Squilla mantis</i>	B	NA	1,44	0,06	7,23	0,29								
<b>Crostacei Totale</b>				<b>2,88</b>	<b>0,36</b>	<b>10,12</b>	<b>1,43</b>	<b>2,84</b>	<b>1,16</b>	<b>27,82</b>	<b>8,94</b>	<b>3,36</b>	<b>1,52</b>		
Pesci	<i>Scorpaena notata</i>	B	AT			1,45	0,06	2,84	0,10	5,22	0,37				
	<i>Microchirus variegatus</i>	B	NA			11,57	0,40								
	<i>Psetta maxima</i>	B	NA							1,74	3,65				
	<i>Raja clavata</i>	B	NA							1,74	5,22			3,57	11,07
	<i>Scyliorhinus canicula</i>	B	NA			1,45	1,85	2,84	3,15	1,74	0,95				
	<i>Solea solea</i>	B	NA	4,31	0,66	4,34	0,84	2,84	0,48	8,70	1,69	5,03	0,66		
	<i>Squalus acanthias</i>	B	NA					1,42	0,11	22,61	24,32			16,07	15,12
	<i>Trigloporus lastoviza</i>	B	NA							1,74	0,19				
	<i>Merlangius merlangus</i>	NB	NA					1,42	0,13						
	<i>Merluccius merluccius</i>	NB	NA					1,42	0,11						
	<i>Pagellus erythrinus</i>	NB	PA							5,22	0,23			1,79	0,07
	<i>Serranus hepatus</i>	NB	PA							1,74	0,04				
	<i>Trisopterus minutus capelanus</i>	NB	PA							3,48	0,13			1,79	0,07
	<i>Engraulis encrasicolus</i>	P	NA									1,68	0,02	8,93	0,13
	<i>Scomber japonicus</i>	P	PA											1,79	0,27
<i>Scomber scombrus</i>	P	PA	1,44	0,11	2,89	0,50									
<i>Spicara maena</i>	P	PA											1,79	0,08	
<i>Trachurus spp</i>	P	PA											1,79	0,27	
<b>Pesci Totale</b>				<b>5,75</b>	<b>0,77</b>	<b>21,70</b>	<b>3,65</b>	<b>12,78</b>	<b>4,08</b>	<b>53,93</b>	<b>36,79</b>	<b>6,71</b>	<b>0,68</b>	<b>37,52</b>	<b>27,08</b>
<b>Totale complessivo</b>				<b>8,63</b>	<b>1,13</b>	<b>31,82</b>	<b>5,08</b>	<b>15,62</b>	<b>5,24</b>	<b>81,75</b>	<b>45,73</b>	<b>10,07</b>	<b>2,20</b>	<b>37,52</b>	<b>27,08</b>

**Tab. 3-XXIV** – Valori medi ( $\pm$  e.s.) ottenuti per i vari indici nel corso del I semestre 2010 di indagine relativi alla piattaforma Tea e alle due aree di controllo.

	Tea	C1	C2
$S_m$	8,83 $\pm$ 1,33	6,50 $\pm$ 0,81	6,83 $\pm$ 1,30
$H'$	0,60 $\pm$ 0,10	0,73 $\pm$ 0,05	0,70 $\pm$ 0,07
N	100,38 $\pm$ 13,79	26,43 $\pm$ 6,56	30,89 $\pm$ 11,24
P	10,01 $\pm$ 3,32	15,60 $\pm$ 9,37	14,41 $\pm$ 7,39

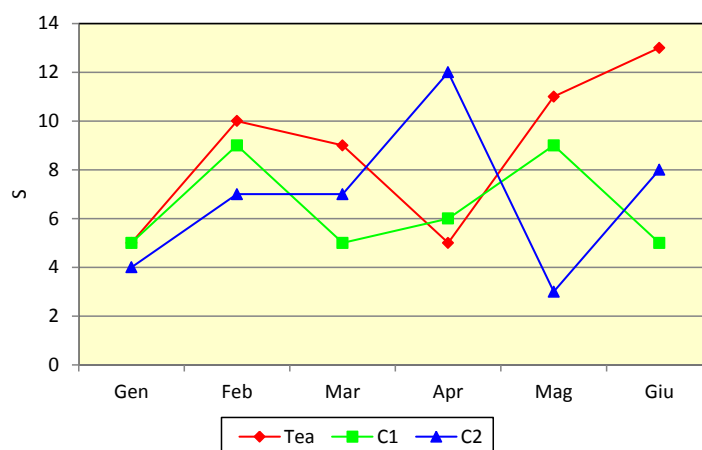
**Tab. 3-XXV** - Risultati del t-test applicato ai valori di Ricchezza specifica (S), Diversità specifica ( $H'$ ), abbondanza (N) e biomassa (P). Altamente significativo  $p < 0,01$ ; non significativo:  $p > 0,05$ .

		Tea	Controllo 1	Controllo 2
$S_m$	Tea		0,164	0,307
	Controllo 1			0,832

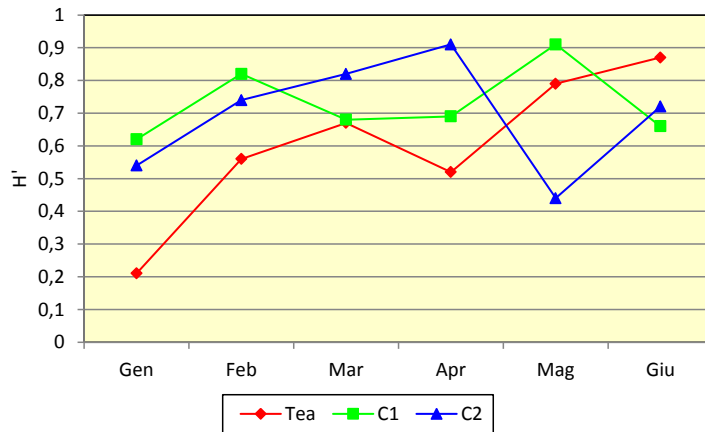
		Tea	Controllo 1	Controllo 2
$H'$	Tea		0,259	0,460
	Controllo 1			0,688

		Tea	Controllo 1	Controllo 2
N	Tea		0,001**	0,003**
	Controllo 1			0,739

		Tea	Controllo 1	Controllo 2
P	Tea		0,587	0,599
	Controllo 1			0,923



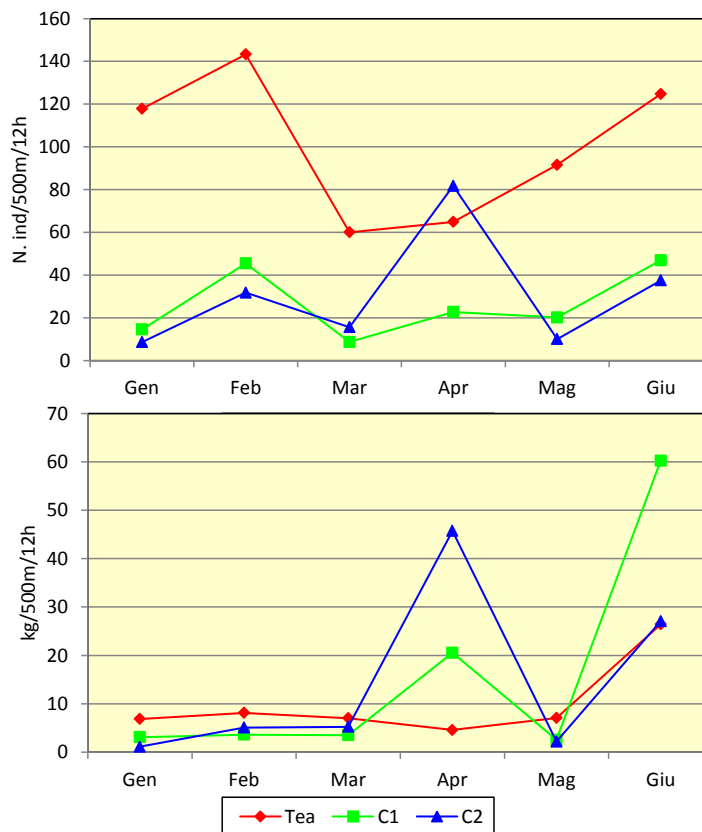
**Fig. 3.39** - Ricchezza specifica ottenuta per la piattaforma e per i due siti di controllo nel I semestre 2010.



**Fig. 3.40** - Diversità specifica ottenuta per la piattaforma e per i due siti di controllo nel I semestre 2010.

### 3.6.2. RENDIMENTI DI PESCA E COMPOSIZIONE DELLE CATTURE

I rendimenti di pesca presso il sito di estrazione sono risultati statisticamente superiori a quelli dei controlli in termini numerici, mentre non sono emerse differenze in termini ponderali (Tabb. 3-XXIV e 3-XXV). Numericamente, infatti, presso Tea sono stati ottenuti sempre valori superiori ai due controlli eccetto ad aprile (fig. 3.41).



**Fig. 3.41** - Rendimenti di pesca in termini numerici N; n. ind/500m/12h) e ponderali (kg/500m/12h) registrati nel I semestre 2010 presso la piattaforma e nelle zone di controllo.

Il massimo (143,84 ind/500m/12h) è stato raggiunto a febbraio e il minimo a marzo (60,02 ind/500m/12h). Da quel mese in poi i rendimenti sono aumentati sino a giugno (124,73 ind/500m/12h). I due controlli hanno presentato trend simili tra loro, anche se l'aumento registrato ad aprile è apparso molto più consistente in C2 (81,75 ind/500m/12h; C1: 22,70 ind/500m/12h). Eccetto marzo e aprile sono stati registrati valori leggermente più elevati in C1.

Per quanto riguarda invece i rendimenti in termini ponderali (fig. 3.41), la piattaforma ha presentato un trend più lineare dei controlli, essendo i valori quasi simili sino a maggio; l'unica variazione da segnalare è il forte incremento a giugno (26,43 kg/500m/12h) determinato soprattutto dalle abbondanti catture di *Scomber japonicus* (Tab. 3-XXI). Analogamente ai rendimenti in numero, anche quelli in peso relativi ai due siti di riferimento hanno presentato trend simili tra loro, con due aumenti in aprile e giugno e una riduzione a maggio. In C1 è stato registrato il massimo assoluto del semestre nell'ultimo campionamento (60,23 kg/500m/12h) determinato soprattutto dagli esemplari di *R. clavata* (Tab. 3-XXII).

I pesci hanno costituito la frazione più importante delle catture in tutti i tre siti (fig. 3.42).

**Pesci bentonici** – In totale sono state censite 14 specie ittiche appartenenti a questo gruppo, di cui 7 presso la piattaforma, 8 in C1 e 8 in C2 (Tabb. 3-XXI – 3-XXIII). Presso Tea i pesci bentonici sono risultati il gruppo meno importante, costituendo il 9,3% in numero e l'11,1% in peso delle catture (fig. 3.42). E' comunque da segnalare che tutte le tre specie bentoniche attratte dai substrati duri, appartenenti alla famiglia degli scorpenidi, sono state censite nelle immediate vicinanze della struttura, mentre solo *S. notata* è stata catturata in C2.

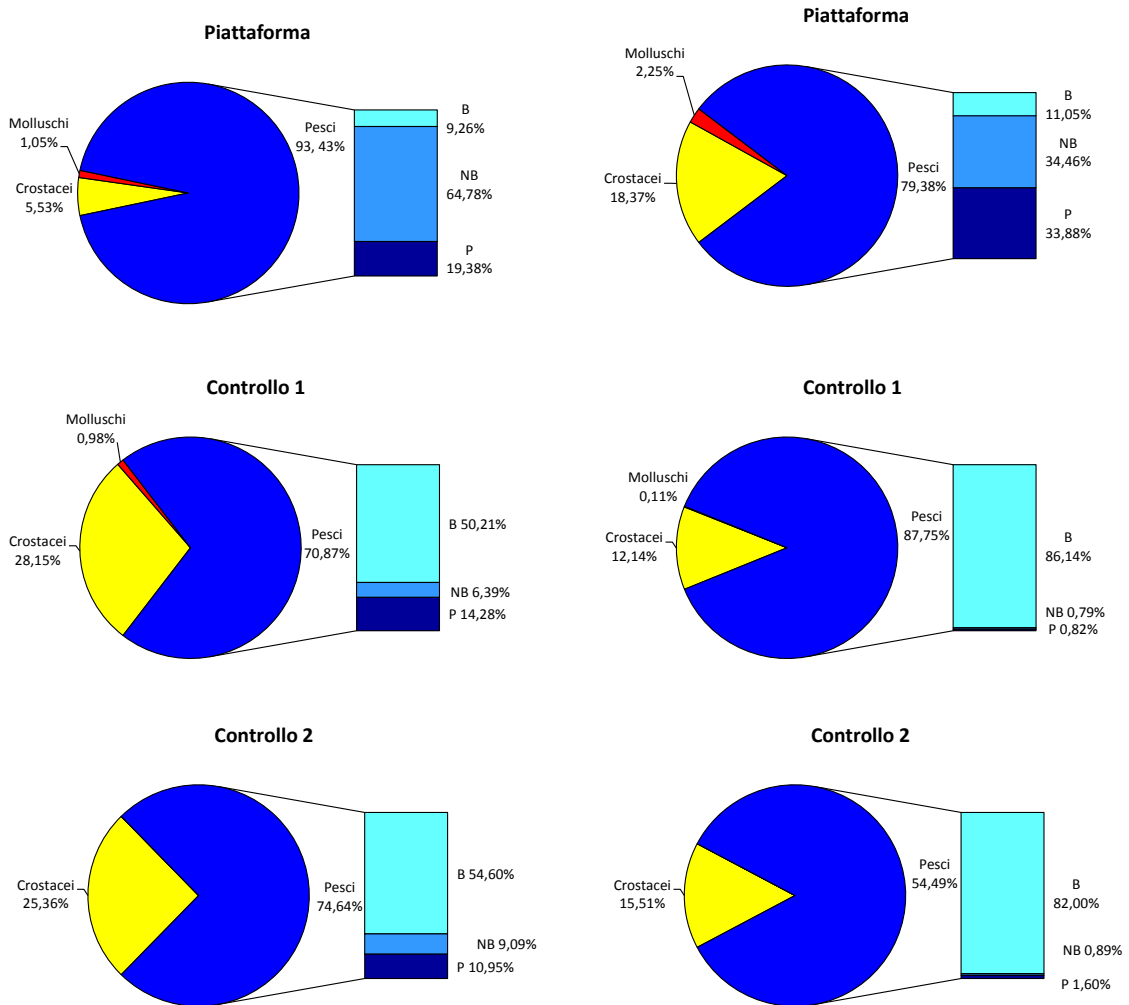
In entrambi i controlli, invece, i bentonici sono risultati i più importanti sia numericamente (C1: 50,2%; C2: 54,6%) che dal punto di vista ponderale (C1: 86,1%; C2: 82,0%).

**Pesci necto-bentonici** – Complessivamente sono state censite 7 specie necto-bentoniche di cui 5 nei pressi della piattaforma, tutte parzialmente attratte dai substrati duri eccetto *Merlangius marlangus* (NA), 4 in C1 e 5 in C2 (Tabb. 3-XXI – 3-XXIII). Presso il sito di estrazione questo gruppo è risultato il primo in ordine di importanza sia in numero (64,8%) che in peso (34,5%), soprattutto per le abbondanti e costanti catture di *T. minutus capelanus*.

Ai controlli invece, è risultato il gruppo dei pesci meno importante sia in numero che in



peso (fig. 3.42).



**Fig. 3.42** - Composizione percentuale delle catture in numero e peso relative alla piattaforma e ai due controlli.

**Pesci pelagici** – In totale sono state catturate 9 specie ittiche pelagiche, tutte censite nei dintorni di Tea, 3 in C1 e 5 in C2 (Tabb. 3-XXI – 3-XXIII). Anche in questo caso la quasi totalità di specie è parzialmente attratta dai substrati duri (fanno eccezione solo *S. pilchardus* ed *E. encrasicolus*).

I pelagici hanno rappresentato il secondo gruppo più importante sia in numero (19,4%) che in peso (33,9%) presso la piattaforma, grazie all'elevata cattura registrata in giugno di *S. japonicus*, specie gregaria che tende a soffermarsi attorno a corpi che si elevano lungo la colonna d'acqua, e, numericamente parlando, a quella di *E. encrasicolus* in maggio. Sia in C1 che in C2 le specie pelagiche hanno rappresentato il secondo gruppo dopo i bentonici, ma con percentuali irrilevanti dal punto di vista ponderale (fig. 3.42).

**Crostacei** – Questa classe è stata rappresentata da 4 specie di cui 2 censite presso Tea e 3 in ciascun controllo (Tabb. 3-XXI – 3-XXIII). Particolare è il rinvenimento esclusivo dell'unica specie attratta dai substrati duri (*D. personata*) nel controllo C2.

In piattaforma i crostacei sono apparsi più incisivi dal punto di vista ponderale (18,4%) che numerico (5,5%). Frazioni più consistenti delle catture in termini numerici sono state ottenute ai due controlli, dove i crostacei hanno rappresentato il 28,2% (C1) e il 25,4% (C2). In peso, invece, presso questi due siti sono state ottenute percentuali pari al 12,1% e al 15,5% (fig. 3.42).

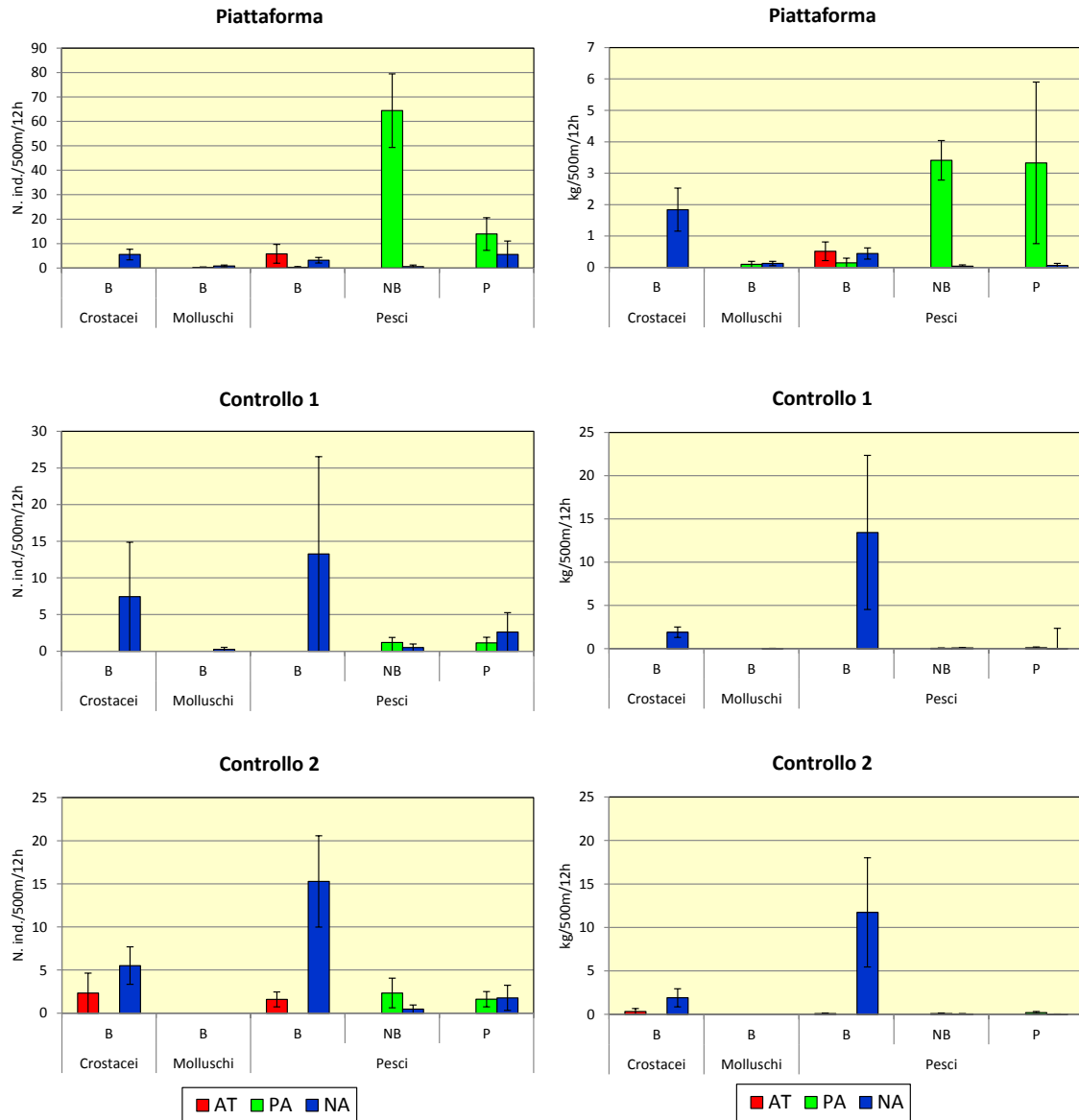
**Molluschi** – Questo Phylum, completamente assente in C2, è stato censito con 4 specie di cui 3 esclusive della piattaforma e 1 esclusiva di C1 (Tabb. 3-XXI – 3-XXIII). In entrambe le aree i molluschi hanno costituito una porzione irrilevante delle catture (fig. 3.42).

### 3.6.3. AFFINITÀ DELLE SPECIE CATTURATE CON I SUBSTRATI DURI

L'analisi delle catture ottenute in piattaforma secondo il grado di affinità delle specie ittiche verso i substrati duri (fig. 3.43), ha evidenziato in piattaforma una prevalenza di specie ittiche necto-bentoniche PA in numero (in peso sono risultate comparabili ai pelagici PA), essenzialmente per la cattura di elevate quantità di *T. minutus capelanus* e *P. erythrinus*; le specie pelagiche PA in termini ponderali sono risultate importanti essenzialmente per le catture di *S. japonicus* (Tab. 3-XXI). Le specie AT sono state censite solo tra i bentonici, tra i quali hanno rappresentato la categoria più abbondante confrontabile tuttavia con quella degli NA. I crostacei sono risultati tutti NA, e sono apparsi più importanti in termini ponderali per la presenza nelle catture di esemplari di *Maja squinado* di grandi dimensioni. I molluschi, invece, sono stati rappresentati da 2 specie NA (*P. jacobaeus* e *Sepia officinalis*) e da 1 PA (*E. moschata*), ma sono risultati irrilevanti sia dal punto di vista numerico che ponderale.

Presso C1 non sono state riscontrate differenze eclatanti tra le varie categorie rinvenute in termini numerici, mentre in peso vi è stata una predominanza di pesci bentonici NA per le catture di specie di grandi dimensioni quali *R. clavata* (fig. 3.44) e *S. acanthias*. Per i necto-bentonici e i pelagici non sono state registrate differenze tra organismi NA e PA, mentre tra i crostacei e i molluschi è stata rappresentata solo la categoria NA.

Presso C2 i bentonici NA hanno prevalso anche numericamente. In questo sito non sono state riscontrate differenze tra le categorie dei necto-bentonici e dei pelagici, come in C1, ma è da evidenziare la presenza di specie AT sia di crostacei che di pesci bentonici.



**Fig. 3.43** - Numero e peso medi delle specie attratte (AT), parzialmente attratte (PA) e non attratte (NA) e relativi errori standard, ottenuti nelle catture effettuate nel I semestre 2010 presso la piattaforma e nelle zone di controllo. B = bentonico; NB = necto-bentonic; P = pelagico.



**Fig. 3.44** – Giugno 2010. Esemplare di *R. clavata* catturato al controllo C1.

### **3.7.     AVVISTAMENTI DI CETACEI E TARTARUGHE MARINE**

A differenza di quanto avvenuto precedentemente (Fabi *et al.*, 2015), nel primo semestre 2010 non sono stati avvistati né delfini né tartarughe marine.

#### 4. CONCLUSIONI

In riferimento al DEC/DSA/2004/00149 del 02/03/2004, la piattaforma Tea è sottoposta a un monitoraggio volto a valutare il potenziale impatto ambientale conseguente alla sua installazione. Gli aspetti indagati contemplati in tale monitoraggio sono stati scelti in base: a) alle specifiche riportate nel decreto del Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare; b) alle conoscenze acquisite dal CNR-ISMAR di Ancona a partire dalla sua costituzione (1969) nel campo dell'oceanografia e della biologia marina in Adriatico e negli altri mari italiani; c) alle numerose esperienze effettuate dal CNR-ISMAR di Ancona dal 1998 ad oggi presso altri impianti di estrazione off-shore installati in alto e medio Adriatico su diverse tipologie di fondale da 20 a 75 m di profondità (Regina, Anemone, Annalisa, Barbara NW, Calpurnia, Naomi-Pandora, PCMS-1, Emilio, Calipso, Clara Est, Clara Nord e Naide; Fabi *et al.*, 2001a; 2001b; 2002; 2003; 2004a; 2004b; 2005a; 2005b; 2006b; 2010b; 2010c; 2014); d) alle caratteristiche idrologiche e sedimentologiche della zona in cui è installata Tea.

Sulla base di queste esperienze, secondo le quali il ripristino delle condizioni originarie nei sedimenti e nell'ambiente biologico circostanti una piattaforma off-shore avente le dimensioni di Tea avviene in circa tre anni dalla sua installazione, è stato proposto un monitoraggio triennale comprendente indagini sulla colonna d'acqua, sui sedimenti (caratteristiche fisiche, chimiche, saggi biologici), sulla ricerca di inquinanti in *Mytilus galloprovincialis*, sulla comunità bentonica e sul popolamento ittico.

Un aspetto innovativo rispetto alla maggior parte dei monitoraggi precedenti, sebbene non previsto dal decreto ministeriale, è consistito in un'indagine antecedente la realizzazione della piattaforma (pre-survey). Tale indagine ha riguardato le caratteristiche fisiche e chimiche della colonna d'acqua e dei sedimenti e la comunità bentonica del fondo originario ed è stata svolta al fine di ottenere informazioni di confronto utili nell'interpretazione dei dati acquisiti nei tre anni successivi all'installazione dell'impianto estrattivo. Per il campionamento della colonna d'acqua è stato applicato il piano di monitoraggio previsto per le indagini successive alla realizzazione della piattaforma e comprendente 8 stazioni di prelievo di cui 4 in prossimità della struttura e 4 di controllo. Per lo studio dei sedimenti e delle comunità bentoniche nel pre-survey è stato invece seguito uno schema di campionamento semplificato che prevedeva il prelievo di campioni in corrispondenza della piattaforma (sito denominato T), in quattro stazioni poste a 60 m di

distanza da essa a NW, NE, SW e SE (T1, T2, T3 e T4 rispettivamente) e in quattro siti di controllo posizionati a 1000 m da Tea (K1, K2, K3 e K4).

Nell'inverno 2007 sarebbe dovuto iniziare il monitoraggio triennale successivo alla messa in opera dell'impianto. Poiché i lavori di installazione e perforazione dei pozzi si sono protratti sino a fine 2007, in conformità con quanto richiesto dal decreto del Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, sono state condotte comunque delle indagini contemporaneamente a tali lavori, rappresentanti un'innovazione rispetto agli studi precedenti effettuati sulle altre piattaforme off-shore. Tali indagini hanno incluso gli stessi aspetti considerati durante il pre-survey e, per motivi di sicurezza legati alla presenza dei mezzi impiegati per la realizzazione della struttura, è stato adottato lo stesso piano di campionamento semplificato del pre-survey.

A partire da gennaio 2008, essendo stati ultimati i lavori di posa in opera della struttura, è iniziato il monitoraggio completo comprendente indagini idrologiche (caratteristiche fisiche e chimiche della colonna d'acqua e correntometriche), sedimentologiche (caratteristiche fisiche, chimiche ed ecotossicologiche), di bioaccumulo su organismi sentinella e biomarkers, oltre allo studio delle comunità bentonica e ittica. In questa fase sono stati adottati piani di campionamento completi. In particolare, per le indagini riguardanti i sedimenti e la comunità bentonica sono stati tracciati due transetti ortogonali tra loro con al centro la piattaforma, lungo i quali sono state posizionate stazioni di campionamento a distanze crescenti. Sono stati anche monitorati gli stessi 4 siti di controllo già utilizzati nelle fasi di pre-survey e durante i lavori di installazione. La ricerca di bioaccumulo e biomarker in *Mytilus galloprovincialis* è avvenuta su esemplari prelevati dalle parti immerse della piattaforma, vicino e lontano dagli anodi sacrificali, e da un sito di controllo lontano da evidenti fonti di contaminazione. La comunità ittica è stata invece investigata mediante campionamenti di pesca mensili effettuati nei pressi di Tea e in due siti di controllo sufficientemente lontani da non esserne influenzati.

Nella presente relazione sono riportati i risultati ottenuti nel primo semestre del terzo anno successivo all'installazione della piattaforma (2010), brevemente confrontati con quelli antecedenti.

**Caratteristiche idrologiche** – Analogamente agli anni precedenti (Fabi *et al.*, 2006a; 2010c; 2011a; 2011b; 2015), anche nel corso del primo semestre 2010 è apparso evidente il naturale riscaldamento della colonna d'acqua tra febbraio e giugno, con la comparsa del termoclino stagionale in quest'ultimo mese. Anche la salinità ha mostrato una

stratificazione superficiale evidente a giugno, probabilmente dovuta alle maggiori precipitazioni piovose del periodo. La saturazione d'ossigeno non ha mai presentato valori al di sotto dell'80%, il che esclude la presenza di episodi ipossici nella zona indagata.

I valori di fluorescenza e torbidità sono apparsi ridotti in tutto il periodo. Il lieve incremento di fluorescenza sullo strato di fondo di tutte le stazioni nell'intero semestre potrebbe essere una conseguenza della presenza della caratteristica corrente di fondo che trasporta verso Sud-Est le acque più dense e ricche in particellato che si formano nel Nord Adriatico nei mesi invernali (Artegiani *et al.*, 1997a; Artegiani *et al.*, 1997b).

I nutrienti hanno spesso presentato concentrazioni più elevate sul fondo, a seguito dalla maggior attività biologica presente a quella quota. Nel giugno 2010 i nutrienti, in particolare nitrati, hanno mostrato concentrazioni elevate anche in superficie, in accordo con la minore salinità legata a un apporto fluviale maggiore e, quindi, a un maggior carico di nutrienti di origine antropica. Comunque, i nutrienti non hanno mostrato valori eccezionali come invece era accaduto ad esempio per gli ortosilicati negli anni precedenti (Fabi *et al.*, 2006a; 2010c; 2011a; 2011b; 2015). Anche le concentrazioni di clorofilla *a*, *b* e *c*, non sono apparse molto abbondanti, indicando che probabilmente nell'area non è avvenuta una crescita di comunità fitoplanctoniche importante. Si è osservata, come già negli anni precedente, qualche differenza tra le concentrazioni delle stazioni vicine alla piattaforma e quelle lontane. In ogni modo le concentrazioni rilevate sono apparse simili a quelle osservate in altre aree dell'Adriatico (Marini *et al.*, 2008).

I dati correntometrici hanno evidenziato come l'area sia soggetta a correnti piuttosto variabili in direzione seppure con una prevalenza verso i settori meridionali. Ciò è caratteristico di quest'area del Nord-Adriatico condizionata sia da eventi atmosferici rilevanti (Bora e Scirocco) che dalla presenza del fiume Po (Orlic *et al.*, 1994; Marini *et al.*, 2008).

**Caratteristiche sedimentologiche** - I sedimenti dell'area indagata sono risultati costituiti in prevalenza dalla componente sabbiosa.

Complessivamente lo studio non ha rilevato variazioni di consistente entità nella tessitura del sedimento, sebbene non siano mancate alcune eccezioni (Fabi *et al.*, 2015). Comunque, nell'inverno 2010 sono stati confermati i dati del survey precedente, essendo le differenze a carico delle singole stazioni del tutto trascurabili (tutte inferiori al 4%).

Per quanto riguarda gli IPA, occorre osservare che questi contaminanti sono stati rilevati a partire dall'inverno 2009. E' ipotizzabile che la loro comparsa, per quanto modesta



essendo sempre abbondantemente inferiore agli LCB indicati da ICRAM-APAT (2007), sia più legata al traffico marittimo che alle operazioni di estrazione della piattaforma.

Nell'inverno 2010 i metalli sono apparsi diffusamente presenti nei sedimenti studiati, ma hanno esibito, analogamente al periodo precedente, concentrazioni modeste, sempre inferiori agli LCB eccetto due casi, il cromo nella stazione B7 posizionata a 120 m a SW di Tea, e lo zinco in A6 posta a 30 a SE della piattaforma. I tenori dei vari metalli in generale non rivelano uno stato di alterazione dell'area causato dalla presenza della piattaforma. Infatti, le concentrazioni medie di transetti e controlli sono risultate comparabili. Rispetto al monitoraggio condotto nell'estate 2009 tutti i metalli eccetto cadmio, mercurio e zinco sono aumentati, ma l'incremento ha coinvolto anche i controlli. Rispetto al pre-survey solo alluminio, cadmio, mercurio e piombo hanno presentato nell'inverno 2010 concentrazioni inferiori o comparabili sia nell'area circostante Tea che ai controlli. Il rame è aumentato ovunque, mentre tutti gli altri metalli si sono ridotti ai controlli e sono aumentati in piattaforma e nei siti a 60 m da essa. E' però da evidenziare che per questi elementi le concentrazioni rilevate nel pre-survey ai controlli erano risultate fortemente superiori rispetto a quelle registrate entro 60 m dalla struttura.

Infine, i dati del monitoraggio testimoniano che Tea non influenza la distribuzione di sostanza organica. Per tutto il periodo di indagine essa ha infatti conservato, lungo i transetti e presso Tea, valori inferiori o confrontabili con quelli del pre-survey e con quelli dei controlli.

**Ecotossicologia dei sedimenti** - I risultati del "test a più lungo termine" effettuato nell'inverno 2010 con il saggio biologico condotto utilizzando l'anfipode *Corophium orientale* hanno rilevato la presenza di tossicità cronica media nel sedimento proveniente dal controllo K1 e di tossicità conica bassa in corrispondenza della piattaforma (A5) e a 60 m a SE da essa (A7), indicando un deterioramento delle proprietà ecotossicologiche dei sedimenti necessari per la permanenza degli organismi rispetto al periodo precedente (Fabi *et al.*, 2015). Tale deterioramento non è comunque esclusivamente imputabile alla presenza della struttura essendo avvenuto, in maniera più rilevante rispetto all'area della piattaforma, in uno dei controlli.

Analogamente alle campagne effettuate nel 2009 (Fabi *et al.*, 2015), quando solo in estate e solo a 60 m a SE di Tea (A7) era stata rilevata una tossicità bassa, anche nell'inverno 2010 il test di fecondazione con i gameti del riccio di mare *Paracentrotus lividus* ha confermato la mancanza di tossicità acuta negli elutriati estratti dai sedimenti pervenuti

dall'area circostante la piattaforma e nelle stazioni di controllo. Solo in corrispondenza di Tea è stato rilevato un basso grado di tossicità, indicando un lieve deterioramento delle condizioni ecotossicologiche in questo sito. Il maggiore impatto acuto era osservato nell'estate 2008 (tossicità acuta media e/o bassa in tutti gli elutriati e alta a 250 m a SW), ovvero nel 2° survey post lavori. Successivamente, come già detto, la presenza di tossicità acuta è stata rilevata solo in A7 nell'estate 2009 e presso Tea nell'ultimo campionamento, suggerendo l'assenza di un possibile effetto acuto da parte delle sostanze trattenute nei sedimenti testati sulla colonna d'acqua sovrastante.

I risultati del test di sviluppo ottenuti nell'inverno 2010 hanno invece evidenziato la presenza di tossicità cronica media o bassa in tutti gli elutriati testati inclusi i controlli. I primi segni di un impatto cronico della piattaforma erano emersi già durante i lavori di installazione della piattaforma (inverno 2007) in corrispondenza della struttura e in un controllo (Fabi *et al.*, 2015). Durante il periodo successivo, sempre durante i lavori di installazione (estate 2007), era stato osservato l'ampliamento delle stazioni interessate da tossicità cronica bassa e/o media. Analogamente al test di fecondazione, anche l'impatto cronico di maggiore importanza si è verificato nell'estate 2008 ma, contrariamente alla tossicità acuta, rilevata nei periodi successivi solo sporadicamente, la tossicità cronica (media e/o bassa) è stata osservata con continuità ovunque, compresi i controlli. Queste osservazioni indicano tutta l'area monitorata presenta un rischio cronico per lo sviluppo regolare degli embrioni di *P. lividus*.

Per quanto concerne infine il test di bioaccumulo con il polichete *Hediste diversicolor*, è stata confermata l'assenza di fenomeni di bioaccumulo già evidenziata precedentemente (Fabi *et al.*, 2015) per cadmio, cromo e rame. Un miglioramento è stato riscontrato per mercurio e zinco, risultati non bioaccumulati nell'inverno 2010 a differenza di quanto osservato nell'estate 2009. Per quanto concerne in particolare il mercurio, è da sottolineare che nell'intero periodo di indagine eccetto l'inverno 2009 erano stati evidenziati segnali di bioaccumulo ovunque. Un peggioramento è invece avvenuto per nichel e vanadio, entrambi al di sotto dei limiti di quantificazione nel 2009 e bioaccumulati nell'inverno 2010. Comunque questa situazione è stata riscontrata anche nei controlli per cui non è presumibilmente conseguente solo alla presenza della piattaforma.

**Ricerca di inquinanti in *Mytilus galloprovincialis*** - L'applicazione della batteria di biomarker tende ad evidenziare una leggera sindrome di stress negli organismi prelevati presso la piattaforma Tea nell'inverno 2010, come già nei survey precedenti (Fabi *et al.*,

2015). Tale condizione è suggerita sia dai risultati dei test aspecifici come nel caso del test di sopravvivenza in aria nel corso dei monitoraggi svolti nell'estate 2008 e nelle stagioni invernali del 2009-2010, dell'indice di condizione e della stabilità delle membrane lisosomiali per l'intero periodo di studio, sia dai test più specifici di esposizione come il moderato accumulo intra-lisosmiale di lipofuscine (effetti subcellulari dello stress ossidativo) osservato nella maggior parte dei casi. Scarso appare l'effetto genotossico, come dimostrato dalla distribuzione delle frequenze di micronuclei, confrontabili con quelle osservate in organismi prelevati presso il sito di controllo e paragonabile a quello riportato presso ambienti costieri relativamente puliti (Klobucar *et al.*, 2008). Allo stesso modo i livelli di fosfato alcalino-labile osservati sia negli esemplari maschi che femmine dimostrano uno scarso effetto estrogenico negli organismi sentinella analizzati.

Lo studio della distribuzione degli inquinanti ha evidenziato da una parte uno scarso accumulo di idrocarburi alifatici e un moderato accumulo di composti organici poliaromatici che, tuttavia, tende a diminuire nel tempo, e dall'altra un aumento di alcuni elementi in traccia la cui frazione biodisponibile tende a produrre nei bivalvi analizzati una significativa risposta biologica evidenziata dall'aumento dei livelli di proteine metallo-chelanti (metallotioneine) nei bivalvi presenti presso la piattaforma. Un ulteriore approfondimento condotto quantificando l'espressione genomica correlata alla sintesi delle metallotioneine dimostra un leggero aumento dell'espressione del gene (MT<sub>20</sub>) correlato alla biodisponibilità di metalli pesanti non essenziali alla fisiologia del mitilo (Dondero *et al.*, 2005, 2006). Comunque, nel complesso i valori osservati per le risposte biologiche e per i livelli di bioaccumulo sono comparabili con quelli presenti in letteratura e/o derivanti da altre indagini effettuate nell'Adriatico settentrionale in ambienti marini e marino costieri (Fabi *et al.*, 2001a; 2003; 2005a; 2005b; 2006b; 2010b; 2010c; 2014; Petrovic *et al.*, 2004; Bocchetti *et al.*, 2006; Carro *et al.*, 2006; Donnini *et al.*, 2007; Lima *et al.*, 2007; Mahaan, 2008; Gorbi *et al.*, 2008; Fattorini *et al.*, 2008).

**Comunità bentonica** – Nell'inverno 2010 non sono stati osservati sostanziali cambiamenti rispetto al periodo di indagine precedente (Fabi *et al.*, 2015). La comunità bentonica ha infatti continuato ad essere piuttosto ricca in termini di numero di individui e di specie e abbastanza diversificata. La maggior parte dei taxa rinvenuti appartiene ai policheti ai molluschi ai crostacei. Quasi tutte le specie sono risultate tipiche di fondi limicoli, a granulometria mista o sabbiosi; una certa quantità di taxa osservati ovunque è tipica dei sedimenti ricchi di materia organica e il loro numero è aumentato nel tempo, ma tali

variazioni non hanno sempre trovato riscontro con le variazioni di sostanza organica nei sedimenti.

E' stata confermata la complessità dei popolamenti rinvenuti, costituiti per lo più da taxa di secondaria importanza, indicata anche dagli elevati valori dell'indice di Diversità specifica. Anche le specie principali non sono comunque risultate nettamente preponderanti sulle comunità. Tra queste, nell'inverno 2010 è stata evidenziata una generale dominanza dei policheti indicatori della presenza di materia organica nei sedimenti *Prionospio cirrifera* e *Paraonidae* nd; solo nei siti posti a 120 m a NE e SW da Tea ha prevalso *Ditrupa arietina*, della Biocenosi dei fondi mobili instabili. Questi taxa erano stati rinvenuti anche nei monitoraggi precedenti, ma con densità e importanza inferiori rispetto all'inverno 2010. Si tratta comunque di variazioni presumibilmente legate alle naturali dinamiche delle specie e non determinate dalla presenza della struttura. In termini di Ricchezza specifica nell'inverno 2010 si è verificato un lieve decremento rispetto all'estate 2009, analogamente a quanto osservato anche negli anni di studio precedente; ciò indica che la comunità bentonica segue delle fluttuazioni stagionali naturali, consistenti in lievi riduzioni nei periodi freddi e aumenti in quelli caldi. Comunque, rispetto all'inverno 2009 il popolamento è risultato più ricco in numero di specie, suggerendo che dopo due anni dall'installazione di Tea (2009) il grado di complessità delle comunità non aveva ancora raggiunto il suo apice e che il processo è ancora in corso.

Nell'ultimo survey da un punto di vista qualitativo è stata riscontrata una buona omogeneità tra la zona circostante la struttura e i controlli, in quanto la maggior parte delle specie è stata rinvenuta in entrambe le aree. Comunque, la maggiore percentuale di specie esclusive (12%) è stata ottenuta in corrispondenza della piattaforma e alcune di queste specie (*Balanus trigonus*, *Balanus perforatus*, *Schizoporella* sp, *Madreporaria* nd) sono legate alla presenza di substrati duri rappresentati ad esempio da valve di bivalvi.

Anche andando ad analizzare le comunità nell'intero periodo di studio è stata riscontrata una discreta omogeneità, nonostante si siano verificate alcune variazioni nel tempo consistenti, ad esempio, nella scomparsa di alcuni taxa e la comparsa di altri. Tali variazioni hanno comunque riguardato anche i controlli, pertanto non sono imputabili esclusivamente alla presenza della piattaforma o ai lavori di installazione. Infatti, l'MDS ha riunito tutti i siti indistintamente dalla loro distanza dalla struttura campionati a partire dall'estate 2007, stagione in cui non erano ancora terminati i lavori di installazione. L'esecuzione dei lavori di posa in opera di Tea non sembra aver provocato nella comunità

bentonica particolari situazioni di stress, come emerso dal calcolo dell'indice W. E' però da evidenziare che nell'inverno 2010 è stato registrato un peggioramento dell'indice che non ha interessato solo pochi siti dei transetti e due controlli su quattro. Particolarmente cospicuo è stato il decremento in corrispondenza di Tea, dove è stato raggiunto il minimo assoluto per questo sito. Anche in questa stagione, tuttavia, tutti i valori sono rimasti positivi indicando l'assenza di una vera e propria condizione di stress.

**Indagini sulla comunità ittica** – I risultati dei survey effettuati nel I semestre 2010 presso la piattaforma Tea hanno presentato analogie con quelli dei monitoraggi precedentemente condotti in Adriatico settentrionale presso altre strutture estrattive (Fabi *et al.*, 2001a; 2003; 2004a; 2004c; 2005b; 2006b) e con alcuni studi condotti in altre aree (Stanley e Wilson, 1990; 1997; Schroeder *et al.*, 1999; Love *et al.* 2000; Løkkerborg *et al.*, 2002). Anche in questo semestre, come nello stesso periodo dell'anno precedente (Fabi *et al.*, 2015), in prossimità dell'impianto di estrazione sono stati evidenziati rendimenti di pesca in termini numerici più elevati rispetto alle zone di controllo. Le specie più rappresentative presso la piattaforma in termini sia numerici che ponderali sono state *Trisopterus minutus capellanus* e *Scomber japonicus*, entrambe parzialmente attratte dai substrati duri, la prima necto-bentonica e la seconda pelagica. L'elevata concentrazione di tali organismi intorno al jacket potrebbe essere stata il risultato di vari fattori, come ad esempio il possibile effetto tigmotropico generato dai piloni sommersi, la maggiore disponibilità di cibo e la diminuzione del rischio di predazione nelle vicinanze della piattaforma rispetto al mare aperto (Bohnsack *et al.*, 1991). Situazioni analoghe erano già state evidenziate presso le piattaforme Barbara NW, Calipso, Annalisa e Clara Est (Fabi *et al.*, 2003; 2004a; 2006b; 2010b), ubicate più a Sud rispetto Tea e a profondità comprese tra 40 m e 75 m.

Da notare inoltre la presenza nelle catture effettuate in prossimità del sito di estrazione degli Scorpeniformi *Scorpaena notata*, *Scorpaena porcus* e *Scorpaena scrofa*, specie bentoniche che presentano un elevato grado di affinità per i substrati duri, in questo caso rappresentati dalla parte sommersa della struttura estrattiva. Questi organismi sfruttano la grande disponibilità di prede e rifugi presenti nella porzione più profonda della piattaforma, come osservato anche in altre strutture estrattive dell'Adriatico settentrionale (Scarcella *et al.*, 2011). Una situazione analoga è stata riscontrata anche presso alcune strutture offshore situate nel Golfo del Messico (Hastings *et al.*, 1976; Sonnier *et al.*, 1976) e nel Sud della California (Carlisle *et al.*, 1964; Love e Westphal, 1990; Love *et al.*, 1994; 2005), dove è stata accertata una notevole colonizzazione di esemplari adulti di

Scorpeniformi del genere *Sebastes*.

Dall'analisi qualitativa delle catture è stata anche riscontrata la presenza di esemplari di dimensioni generalmente piuttosto considerevoli di specie appartenenti ai Selaci (*R. clavata*, *S. canicula*, *S. acanthias*) esclusivamente presso i siti di controllo.

**Avvistamenti di cetacei e tartarughe marine** – Durante la fase di costruzione della piattaforma Tea (maggio 2007) era avvenuto l'avvistamento di tursiopi *Tursiops truncatus* in navigazione a circa 4 km dalla struttura, pertanto a una certa distanza dall'area interessata dai lavori che, presumibilmente, creavano un certo disturbo per questi animali (Fabi *et al.*, 2015). Nella fase di produzione in tre occasioni nel 2008 (febbraio, aprile e settembre) e in due nel 2009 (maggio e settembre) erano stati avvistati piccoli branchi della stessa specie e una tartaruga della specie *Caretta caretta* anche a distanze molto ravvicinate rispetto a Tea (20 m). E' probabile che l'effetto attrattivo da parte della struttura nei confronti di specie ittiche inducesse i cetacei e le tartarughe marine ad un avvicinamento in cerca di cibo abbondante e facilmente disponibile. Tuttavia, nel primo semestre 2010 non sono avvenuti avvistamenti, ma è probabile che ciò sia stato un caso fortuito legato ai periodi di avvistamento.

## 5. BIBLIOGRAFIA

- Aarab N., Minier C., Lemarie S., Uruh E., Hansen P.D., Larsen B.K., Andersen O.K., Narbonne J.F. 2004. Biochemical and histological responses in mussel (*Mytilus edulis*) exposed to North Sea oil and to a mixture of North Sea oil and alkylphenols. *Mar. Environ. Res.*, 58: 437-441.
- Accomando R., Viarengo A., Orunesu M. 1990. *In vivo* and *in vitro* effects of heavy metals on DNA polymerase activities in the digestive gland of *Mytilus* in sea-grasses, benthic algae, oysters and recent sediments from Terminos Lagoon, Campeche, Mexico. *Bull. Environ. Cont. Toxicol.*, 19 (2): 162-170.
- Aebi H. 1974. Catalase. Pagg. 671-684, *in*: Methods on enzymatic analysis. Bergmeyer H.U. (Ed.), Academic Press, London.
- Ahmed M. T., Mostafa G. A., Al Rasbi S. A., Askar Ahmed. A. 1998. Capillary gas chromatography determination of aliphatic hydrocarbons in fish and water from Oman. *Chemosphere*, 36, (6), Pp 1391-1403.
- Amouroux J.M. 1974. Etude des peuplements infralittoraux de la côte du Roussillon. *Vie Milieu*, 24 (1) sèr. B: 209-222.
- Artegiani A. 1996. *Temperature and salinity measurements of seawaters, Handbook of method protocols*. MAST II Mediterranean Targeted Project. 34 pp.
- Artegiani A., Bregant D., Paschini E., Pinardi N., Raicich F., Russo A. 1997a. The Adriatic Sea general circulation. Part I. Air-sea interactions and water mass structure. *J. Phys. Oceanogr.*, 27: 1492– 1514.
- Artegiani A., Bregant D., Paschini E., Pinardi N., Raicich F., Russo A. 1997b. The Adriatic Sea general circulation. Part II: Baroclinic Circulation Structure. *J. Phys. Oceanogr.*, 27: 1515– 1532.
- ASTM. 1998a. *Standard Guide for Conducting Static Acute Toxicity Tests with Echinoid Embryos*. ASTM/E 1563-1998. American Society for testing and materials, Philadelphia, PA. 21 pp.
- ASTM. 1998b. *Standard guide for determination of the bioaccumulation of sediment-associated contaminants by benthic invertebrates*. Standard ASTM E1688-97a. American Society for testing and materials, Philadelphia, PA. 57 pp.
- Augier H. 1992. *Inventaire et classification des biocenoses marines benthique de la Méditerranée*. Conseil de l'Europe. U.E.R. Des Sciences de la Mer et de l'Environnement de Luminy Marseille. 59 pp.
- Bellan Santini D., Ledoyer M. 1972. Inventaire des amphipodes gammariens récoltés dans la Région de Marseille. *Tethys*, 4 (4): 899-934.
- Bellan G., Bellan Santini D., Picard J. 1980. Mise en évidence de modèles eco-biologiques dans des zones soumises à perturbations par matières organiques. *Oceanol. Acta*, 3: 383-390.
- Bellan Santini D., Bellan G., Bitar G., Harmelin J-G., Pergent G. 2002. *Handbook for interpretino types of marine habitat for the selection of site sto be included in the national inventories of natural sites of conservation interest*. United Nations Environment Programme, Action Plan for the Mediterranean. 217 pp.
- Bianchi C.N., Ceppodomo I., Galli C., Sgorbini S., Dell'Amico F., Morri C. 1993. Benthos dei mari toscani. I: Livorno – Isola d'Elba (Crociera ENEA 1985). *ENEA Arcipelago Toscano – Serie Studi Ambientali*: 263-291.
- Blaise C., Gagné F., Pellerin J., Hansen P.D. 1999. Determination of vitellogenin-like properties in *Mya arenaria* hemolymph (Saguenay Fjord, Canada): a potential biomarker for endocrine

- disruption. *Environ. Toxicol*, 14: 455-465.
- Bocchetti R., Regoli F. 2006. Seasonal variability of oxidative biomarkers, lysosomal parameters, metallothioneins and peroxisomal enzymes in the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* from Adriatic Sea. *Chemosphere*, 65 (6): 913-921.
- Bohnsack J.A., Jhonson D.L., Ambrose R.F. 1991. Ecology of artificial reef habitats and fishes. Pages 61-108, in Seaman W.J., Sprague L.M. (Eds.), *Artificial Habitats for Marine and Freshwater Fisheries*. Academic Press. San Diego, California.
- Bolognesi C., Fenzilli G., Lasagna C., Perrone E., Roggeri P., 2004. Genotoxicity biomarkers in *Mytilus galloprovincialis* wild versus caged mussels. *Mut. Res.*, 552, 153-162.
- Bolognesi C., Rabboni R., Roggeri P. 1996. Genotoxicity biomarkers in *M. galloprovincialis* as indicators of marine pollutants. *Comp. Biochem. Physiol.*, 113C (2): 319-323.
- Bolognesi, C., Landini, E., Roggeri, P., Fabbri, R., Viarengo, A. 1999. Genotoxicity biomarkers in the assessment of heavy metal effects in mussels: experimental studies. *Environ. Mol. Mutagen.*, 33: 287-292.
- Bombace G., Fabi G., Fiorentini L., Speranza S. 1994. Analysis of the efficacy of artificial reefs located in five different areas of the Adriatic Sea. *Bull. Mar. Sci.*, 55 (2-3): 559-580.
- Botello A.V., Mandelli E.F. 1978. Distribution of n-paraffins in sea-grasses, benthic algae, oysters and recent sediments from Terminos Lagoon, Campeche, Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 19 (2): 162-170.
- Bourcier M., Nodot C., Jeudy De Grissac A., Tine J. 1979. Répartition des biocénoses benthiques en fonction des substrats sédimentaires de la rade de Toulon (France). *Tethys*, 9: 103-112.
- Bradford M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72 (1-2): 248-254.
- Brunetti R., Gabriele M., Valerio P., Fumagalli O. 1992. The micronucleus test: temporal pattern of base-line frequency in *Mytilus galloprovincialis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 83: 75-78.
- Buchner T., Oescheger D.A., Theede H. 1996. Aspects of antioxidant status in the polychaete *Arenicola marina*: tissue and sub cellular distribution and reaction to environmental hydrogen peroxide and elevated temperatures. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 143: 141-150.
- Cantone G., Fassari G., Mollica E. 1992. Analisi comparativa del popolamento a Policheti dei fondi mobili costieri del Golfo di Catania. *Animalia*, 19 (1/3): 1981-192.
- Cajaraville M.P., Bebianno M.J., Blaso J., Porte C., Sarasquete C., Viarengo A. 2000. The use of biomarkers to assess the impact pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. *Sci. Tot. Environ.*, 247: 295-311.
- Carlisle J.G.Jr., Turner C.H., Ebert E.E. 1964. *Artificial habitat in the marine environment*. California Department of Fish and Game, Fish Bulletin, 124. 93 pp.
- Carro N., Cobas J., Maneiro J., 2006. Distribution of aliphatic compounds in bivalve mollusks from Galicia after the Prestige oil spill: Spatial and temporal trends. *Environ. Res.*, 100 (3): 339-348.
- Chimenz Gusso C., Gravina M.F., Maggiore F.R. 2001. Temporal variations in soft bottom benthic communities in Central Tyrrhenian Sea (Italy). *Archo Oceanogr. Limnol.*, 22: 175-182.
- Cicero A.M., Di Girolamo I. 2001. *Metodologie Analitiche di Riferimento del Programma di Riferimento per il controllo dell'ambiente marino costiero (triennio 2001-2003)*. Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio, ICRAM (Ed.).
- Clark R.C.Jr., Blumer M. 1967. Distribution of n-paraffins in marine organisms and sediments. *Limol. Oceanogr.*, 12: 79-87.



- Clarke K.R., Warwick R.M. 2001. *Change in Marine Communities: An Approach to Statistical Analysis and Interpretation*. 2<sup>nd</sup> Edition. PRIMER-E, Plymouth, Uk. 172 pp.
- Crema R., Castelli A., Prevedelli D. 1991. Long term eutrophication effects on macrofaunal communities in Northern Adriatic Sea. *Mar. Poll. Bull.*, 22 (10): 503-508.
- Dailianis S., Domouhtsidou G.P., Raftopoulou E., Kaloyianni M., Dimitriandis V.K. 2003. Evaluation of neutral red retention assay, micronucleus test, acetylcholinesterase activity and signal transduction molecule (cAMP) in tissues of *Mytilus galloprovincialis* (L.), in pollution monitoring. *Mar. Environ. Res.*, 56: 443-470.
- De Biasi A.M., G. Fabi, L.Pacciardi, F. Gai, S. Ferrari, M. Puletti, S. De Ranieri, 2006. Monitoraggio di una piattaforma di estrazione nel Mar Adriatico settentrionale: metalli pesanti. *Atti Soc. tosc. Sci. nat., Mem., Serie B*, 113: 83-89.
- de Zwaan A., de Kock W.C. 1988. The development of a general biochemical stress index. *Mar. Environ. Res.*, 24: 254-255.
- de Zwaan A., Wijsman T.M.C. 1976. Anaerobic metabolism in bivalvia (Mollusca). Characteristics of anaerobic metabolism. *Comp. Biochem. Physiol.*, 54B: 313-323.
- Dillon T.M., Moore W.D., Gibson A.B. 1993. Development of a chronic sublethal bioassay for evaluating contaminated sediment with the marine polychaete worm *Nereis (Neanthes) arenaceodentata*. *Environ. Tox. Chem.*, 12: 589-605.
- Domouhtsidou G.P., Dailianis S., Kaloyianni M., Dimitiadis V. K. 2004. Lysosomal membrane stability and metallothionein content in *Mytilus galloprovincialis* (L.), as biomarker combination with trace metals concentration. *Mar. Poll. Bull.*, 48: 572-586.
- Dondero F., Piacentini L., Banni M., Rebelo M., Burlando B., Viarengo A., 2005. Quantitative PCR analysis of two molluscan metallothionein genes unveils differential expression and regulation. *Gene* 345, 259–270.
- Dondero F., Dagnino A., Jonsson H., Capri F., Gastaldi L., Viarengo A. 2006. Assessing the occurrence of a stress syndrome in mussels (*Mytilus edulis*) using a combined biomarker/gene expression approach. *Aquatic Toxicology*, 78: S13–S24.
- Donnini F., Dinelli E., Sangiorgi F., Fabbri E. 2007. A biological and geochemical integrated approach to assess the environmental quality of a coastal lagoon (Ravenna, Italy). *Env. Int.*, 33 (7): 919-928.
- Eertman R.H.M., de Zwaan A. 1994. Survival of the fittest: resistance of mussels to aerial exposure. Pagg. 269-284, in: Kramer (Ed.), *Biomonitoring of Coastal Waters and Estuaries*. CRC Press, Boca Raton.
- Eertman R.H.M., Wagenvoort A.J., Hummel H., Smaal A.C. 1993. "Survival in air" of the blue mussel *Mytilus edulis* L. as a sensitive response to pollution-induced environmental stress. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 170: 179–195.
- EPA. 1994. *Methods for Assessing the Toxicity of Sediment-associated contaminants with Estuarine and Marine Amphipods*. EPA/600/R-94/025. June 1994. 156 pp.
- EPA. 1995. *Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to West Coast Marine and Estuarine Organisms*. EPA/600/R-95/136. August, 1995. 15 pp.
- EPA. 1998. *Evaluation of Dredged Material Proposed for Discharge in Waters of the U.S. -Testing Manual* EPA 823-B-98-004. February 1998. 176 pp.
- Fabi G., De Ranieri S., Grati F., Marini M., Spagnolo A. 2001a. *Servizi di monitoraggio ambientale Campo Regina. III anno di indagine. Rapporto finale*. Rapporto Eni S.p.A. – Divisione E&P, Distretto di Ravenna. 228+XLIX pp.

- Fabi G., De Ranieri S., Panfili M. 2001b. *Servizi di monitoraggio ambientale Campo Anemone (1099-2000) - Rapporto finale*. Rapporto per Eni S.p.A. – Divisione E&P, Distretto di Ravenna. 119 pp.
- Fabi G., De Ranieri S., Manoukian S., Panfili M. 2002. *Servizi di monitoraggio ambientale Campo Calpurnia. Rapporto conclusivo di due anni di indagine (2000-01)*. Rapporto per Eni S.p.A. – Divisione E&P, Distretto di Ravenna. 65 + IX pp.
- Fabi G., De Ranieri S., Panfili M., Scarcella G., Spagnolo A. 2003. *Servizi di monitoraggio ambientale Campo Annalisa. III Anno di indagine. Rapporto Finale*. Rapporto per Eni S.p.A. – Divisione AGIP, Distretto di Ravenna. 123 + XLVI pp.
- Fabi G., De Ranieri S., Manoukian S., Marini M., Scarcella G., Spagnolo A. 2004a. *Servizi di monitoraggio ambientale Campo Barbara NW. Rapporto conclusivo di tre anni di indagine (2000-2002)*. Rapporto per Eni S.p.A. – Divisione E&P, Distretto di Ravenna. 227 + IL pp.
- Fabi G., De Biasi A.M., Marini M., Scarcella G., Spagnolo A. 2004b. *Monitoraggio della piattaforma Emilio e del sea-line di collegamento alla piattaforma Eleonora. Indagini idrologiche e biologiche (comunità bentonica e ittica). Rapporto Finale*. Rapporto per l'ICRAM. 86 pp.
- Fabi G., Grati F., Puletti M., Scarcella G. 2004c. Effects on fish community induced by the installation of two gas platforms (Adriatic sea). *Mar. Ecol. Progr. Series*, 273: 187-197.
- Fabi G., Ausili S., De Ranieri S., Nasci C., Spagnolo A. 2005a. *Servizi di monitoraggio ambientale piattaforma di estrazione di idrocarburi gassosi "Porto Corsini Mare Sud 1 (PCMS-1)". Rapporto conclusivo di due anni di indagine*. Rapporto per Eni S.p.A. – Divisione E&P, Distretto di Ravenna. 95 + XI pp.
- Fabi G., Boldrin A., De Ranieri S., Manoukian S., Nasci C., Scarcella G., Spagnolo A. 2005b. *Servizi di monitoraggio ambientale Piattaforma di estrazione di idrocarburi gassosi "Naomi-Pandora". Rapporto conclusivo di due anni di indagine (2002-2003)*. Rapporto per Eni S.p.A. – Divisione E&P, Distretto di Ravenna. 201 + XXVIII pp.
- Fabi G., De Ranieri S., Marini M., Spagnolo A. 2006a. *Servizi di monitoraggio ambientale Campo Tea – Pre-survey (2006)*. Rapporto per Eni S.p.A. – Divisione E&P, Distretto di Ravenna. 64 + XXIV pp.
- Fabi G., De Ranieri S., Manoukian S., Marini M., Meneghetti F., Paschini E., Scarcella G., Spagnolo A. 2006b. *Servizi di monitoraggio ambientale Campo Calipso. Rapporto finale di 4 anni di studio (2002-2005)*. Rapporto per Eni S.p.A. – Divisione E&P, Distretto di Ravenna. 224 + XLII pp.
- Fabi G., De Ranieri S., Marini M., Spagnolo A. 2006b. *Servizi di monitoraggio ambientale Campo Tea – Pre-survey (2006)*. Rapporto per Eni S.p.A. – Divisione E&P, Distretto di Ravenna. 64 + XXIV pp.
- Fabi G., De Ranieri S., Marini M., Spagnolo A. 2010a. *Servizi di monitoraggio ambientale Campo Tea. I anno di monitoraggio - Rapporto finale*. Rapporto per ENI S.p.A. – Divisione E&P, Distretto di Ravenna. 157 + XXIX pp.
- Fabi G. De Ranieri S., Grilli F., Nasci C., Spagnolo A. 2010b. *Servizi di monitoraggio ambientale Campo Clara Nord. Rapporto conclusivo di tre anni di indagine (estate 2005 - inverno 2008)*. Rapporto per Eni S.p.A. – Divisione E&P, Distretto di Ravenna. 240 + XLIII pp.
- Fabi G., Campanelli A., De Ranieri S., Nasci C., Polidori P., Punzo E. 2010c. *Servizi di monitoraggio ambientale Campo Clara Est. Rapporto conclusivo di tre anni di monitoraggio (estate 2005 - inverno 2008)*. Rapporto per Eni S.p.A. – Divisione E&P, Distretto di Ravenna. 353 + XLI pp.
- Fabi G., Bolognini L., De Ranieri S., Domenichetti F., Penna P., Santelli A. 2011a. *Servizi di*

- monitoraggio ambientale Campo Tea. II anno dopo la posa in opera della piattaforma, III anno dopo la posa del sea-line. Rapporto semestrale (gennaio – giugno 2009). Rapporto per Eni S.p.A. – Divisione E&P, Distretto di Ravenna. 206 + XLV pp.*
- Fabi G., De Ranieri S., Penna P., Domenichetti F., Spagnolo A. 2011b. *Servizi di monitoraggio ambientale Campo Tea. III anno di monitoraggio - Rapporto finale. Rapporto per ENI S.p.A. – Divisione E&P, Distretto di Ravenna. 285 + XLV pp.*
- Fabi G., Bolognini L., De Ranieri S., Domenichetti F., Penna P., Santelli A. 2011c. *Servizi di monitoraggio ambientale Campo Tea. IV anno di monitoraggio II anno dopo la posa della piattaforma, III anno dopo la posa del sea-line. Rapporto semestrale (gennaio – giugno 2009). Rapporto per ENI S.p.A. – Divisione E&P, Distretto di Ravenna. 206 + XLV pp.*
- Fabi G., De Ranieri S., Girasole M., Gomiero G., Penna P., Spagnolo A. 2014. *Servizi di monitoraggio ambientale Campo Naide. Rapporto finale dal pre-survey al IV anno dopo la posa in opera (2004-2009). Misure correntometriche, Indagini sedimentologiche, ecotossicologiche e Analisi di inquinanti in organismi marini. Rapporto per Eni S.p.A. – Divisione E&P, Distretto di Ravenna. 213 + xlviii pp.*
- Fabi G., Bolognini L., De Ranieri S., Domenichetti F., Nasci C., Penna P., Santelli A., Spagnolo A. 2015. *Servizi di monitoraggio ambientale Campo Tea. II anno dopo la posa in opera della piattaforma, III anno dopo la posa del sea-line - Rapporto finale (estate 2006 - estate 2009). Rapporto per ENI S.p.A. – Divisione E&P, Distretto di Ravenna. 307 + XLV pp.*
- Fattorini D., Notti A., Di Mento R., Cicero A. M., Gabellini M., Russo A., Regoli F. 2008. Seasonal, spatial and inter-annual variations of trace metals in mussels from the Adriatic sea: a regional gradient for arsenic and implications for monitoring the impact of off-shore activities. *Chemosphere* 72, 1524–1533.
- Fisher W., Bauchot M.L., Schneider M. (Eds). 1987. *Fishes FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. (Révision 1) Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37. Vol. 1. Végétaux et Invertébrés. Publication préparée par la FAO, résultat d'un accord entre la FAO et la Commission des Communautés Européennes (Project GCP/INT/422/EEC) financée conjointement par ces deux organizations. Rome, FAO. 760 pp.*
- Gagnè F., Blaise C., Lachance B., Sunahara G.I., Sabik H. 2001. Evidence of coprostanol estrogenicity to the freshwater mussel *Elliptio complanata*. *Environ. Poll.*, 115: 97-106.
- Gagnè F., Blaise C., Pellerin J., Gauthier-Clerc S. 2002. Alteration of the biochemical properties of female gonads and vitellins in the clam *Mya arenaria* at contaminated sites in the Saguenay Fjord. *Mar. Environ. Res.*, 53: 295-310.
- Gambi M.C., Giangrande A. 1985. Caratterizzazione e distribuzione delle categorie di policheti nei fondi mobili del Golfo di Salerno. *Oebalia*, 11: 223-240.
- Gamulin-Brida H. 1974. Biocenoses bentiques de la mer Adriatique. *Acta Adriatica*, 15 (9): 1-102.
- Gelpi E., Schneider H., Mann J., Oró J. 1970. Hydrocarbons of geochemical significance in microscopic algae. *Phytochemistry*, 9(3): 603-612.
- George S.G., Viarengo A. 1985. A model for heavy metal homeostasis and detoxication in mussels. Pagg. 125-133, in: Vernberg F.J., Thurberg F.P., Calabrese A., Verberg W.B. (Eds.), *Marine pollution and physiology: recent advances*. University of South Carolina Press, Columbia, SC.
- Gorbi S., Lamberti C.V., Notti A., Benedetti M., Fattorini D., Moltedo G., Regoli F. 2008. An ecotoxicological protocol with caged mussels, *Mytilus galloprovincialis*, for monitoring the impact of an offshore platform in the Adriatic sea. *Mar. Environ. Res.*, 65 (1): 34-49.
- Hansen P.D., Dizer H., Hock B., Marx A., Sherry J., McMaster M., Blaise C. 1998. Vitellogenin – a biomarker for endocrine disruptors. *Trends Anal. Chem.*, 17 (7): 448-451.

- Hastings R.W., Ogren L.H., Mabry M.T. 1976. Observations on the fish fauna associated with offshore platforms in the north-eastern Gulf of Mexico. *Fish. Bull.*, 74 (2): 387-401
- Heddle J.A., Cimino M.C., Hayashi M., Romagna F., Shelby M.D., Tucker J.D., Vanparys Ph., MecGregor J.T. 1991. Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present and future. *Environ. Molec. Mutag.*, 18: 277-291.
- Higuchi R., Fockler C., Dollinger G., Watson R. 1993. Kinetic PCR Analysis: real time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology*, 11 (9) pp. 1026-1030.
- ICRAM-APAT. 2007. *Manuale per la monvimentazione dei sedimenti marini*. 97 pp.
- Jabbar A., Davies J.L. 1987. A simple and convenient biochemical method for sex identification in the marine mussels, *Mytilus edulis* L. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 107: 39-44.
- Jiménez B. 1997. Environmental effects of endocrine disruptors and current methodologies for assessing wildlife health effects. *Trends in Analytical Chemistry*, 16 (10): 596-606.
- Klobučar G. I.V., Štambuka A., Hylland K., Pavlica M., 2008. Detection of DNA damage in haemocytes of *Mytilus galloprovincialis* in the coastal ecosystems of Kaštela and Trogir bays, Croatia. *Science of the total Environment*, 405: 330-337.
- Kohler K., Riisgard, H.U. 1982. Formation of metallothioneins in relation to accumulation of cadmium in the common mussel *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, 66: 53-58.
- Lagadic L., Caquet T. 1998. Invertebrates in Testing of Environmental Chemicals: Are They Alternatives? *Environmental Health Perspectives* 106 (2): 593.
- Lima I., Moreira S. M., Rendón-Von Osten J., Soares A.M.V.M. and Guilhermino L., 2007. Biochemical responses of the marine mussel *Mytilus galloprovincialis* to petrochemical environmental contamination along the north-western coast of Portugal. *Chemosphere*, 66 (7): 1230-1242.
- Livak J., Schmittingen T., D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real time quantitative PCR and the 2-CT method. *Methods*, 25: 402-408.
- Livingstone D.R. 1991. Organic xenobiotic metabolism in marine invertebrates. *Adv. Comp. Envir. Phys.*, 7: 45-185.
- Livingstone D.R., Pipe R.K. 1992. Mussels and environmental contaminants: molecular and cellular aspects. Pagg. 425-464, in: Gosling E. (Ed.), *The Mussel Mytilus: Ecology, Physiology, Genetics and Culture*. Elsevier Press, Amsterdam.
- Løkkeborg S., Humborstad O. B., Jørgensen T., Soldal A.V. 2002. Spatio-temporal variations in gillnet catch rates in the vicinity of North Sea oil platform. *ICES Journ. of Mar. Sci.*, 59: 294-299.
- Love M.S., Westphal W. 1990. Comparison of fishes taken by a sportfishing party vessel around oil platforms and adjacent natural reefs near Santa Barbara, California. *Fishery Bulletin*, U.S., 88: 599-605.
- Love, M. S., Caselle J., Snook L. 2000. Fish assemblages around seven oil platforms in the Santa Barbara Channel area. *Fish. Bull.*, 98: 96-117.
- Love M.S., Hyland J., Ebeling A., Herrlinger T., Brooks A., Imamura E. 1994. A pilot study of the distribution and abundances of rock fishes in relation to natural environmental factors at an offshore oil and gas production platform off the coast of southern California. *Bull. Mar. Sci.*, 55 (2-3): 1062-1085.
- Love M.S., Schroeder M.D., Leanz W.H. 2005. Distribution of Boccaccio (*Sebastes paucispinis*) and Cowcod (*Sebastes levis*) around oil platforms and natural outcrops off California with implication for larval production. *Bull. Mar. Sci.*, 77 (3): 397-408.

- Lowe D.M., Fossato V.U., Depledge M.H. 1995. Contaminant-induced lysosomal membrane damage in blood cells of mussels *Mytilus galloprovincialis* from the Venice Lagoon: an in vitro study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 129: 189-196.
- Lucas A., Beninger P.G. 1985. The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture*, 44: 187-200.
- Mahanan M. 2008. Heavy metal concentrations in marine molluscs from the Moroccan coastal region. *Env. Pol.*, 153 (1): 176-183.
- Marini M., Jones B.H., Campanelli A., Grilli F., Lee C.M. 2008. Seasonal variability and Po River plume influence on biochemical properties along western Adriatic coast. *J. Geophys. Res.*, 113, C05S90, doi:10.1029/2007JC004370
- May R.M. 1979. Patterns of Species Abundance and Diversity. In Cody M.L. and Diamond J.M. (eds). *Ecology and Evolution of Communities*, 4: 81-120.
- McCarthy J.F., Shugart L.R. 1990. Biological markers of environmental contamination. Pagg. 3-14, in: McCarthy J.F., Shugart L.R. (Eds.), *Biomarkers of Environmental Contamination*. Lewis Publishers, Boca Raton Florida.
- Mersch J., Beauvais M.N., Nagel P. 1996. Induction of micronuclei in haemocytes and gill cells of zebra mussels, *Dreissena polymorpha*, exposed to clastogens. *Mut. Res.*, 371: 47-55.
- Michael X.R., Cassand P.M., Ribera D.G., Narbonne J.F. 1992. Metabolism and mutagenic activation of benzo(a)pyrene by sub cellular fractions from mussels (*Mytilus galloprovincialis*) digestive gland and the sea brass (*Dicentrarchus labrax*) liver. *Comp. Biochem. Physiol.*, C103: 43-51.
- Moore M.N. 1990. Lysosomal cytochemistry in marine environmental monitoring. *Histochemistry*, 22: 187-191.
- Nasci C., Campesan G., Fossato V.U., Dolci F., Mesetto A. 1989. Hydrocarbon content and microsomal BPH and reductase activity in mussel, *Mytilus* sp., from the Venice area, North-East Italy. *Mar. Environ. Res.*, 28: 109-112.
- Nasci C., Nesto N., Monteduro R.A., Da Ros L. 2002. Field application of biochemical markers and a physiological index in the mussel, *Mytilus galloprovincialis*: transplantation and biomonitoring studies in the lagoon of Venice (NE Italy). *Mar. Environ. Res.*, 54 (3-5): 811-816.
- National Research Council. 1985. *Oil in the sea*. National Academy Press. Washington D.C. 60 pp.
- Nodot C., Bourcier M., Juedy De Grissac A., Hursner S., Regis J., Tine J. 1984. Répartition des biocenoses benthiques en fonction des substrats sédimentaires de la rade de Toulon (France). 2. La Grande Rade. *Tethys*, 11: 141-153.
- Okumus, I., Stirling, H.P. 1998. Seasonal variations in the meat weight, Condition Index and biochemical composition of mussels (*Mytilus edulis* L.) in suspended culture in two Scottish sea lochs. *Aquaculture*, 159 (3-4): 249-261.
- Orban E., Di Lena G., Nevigato T., Casini I., Marzetti A. and Caproni R. 2002. Seasonal changes in meat content, condition index and chemical composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) cultured in two different Italian sites. *Food Chemistry* 77 (1), 57-65.
- Orlic M., Kuzmic M., Pasaric Z. 1994. Response of the Adriatic Sea to Bora and Sirocco forcings, *Cont. Shelf. Res.*, 14 (1): 91-116.
- Ottaviani E., Franceschini C. 1997. The invertebrate phagocytic immunocyte: clues to a common evolution of immune and neuroendocrine system. *Immunology Today*, 18: 169-174.
- Pampanin D.M., Camus L., Gomiero A., Marangon I., Volpato E., Nasci C. 2005. Susceptibility to oxidative stress of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) in the Venice Lagoon (Italy). *Mar.*

*Poll. Bull.*, 50: 1548-1557.

- Pérès J.M., Picard J. 1964. Nouveau Manuel de Bionomie benthique de la Mer Méditerranée. *Recl. Trav. St. Mar. Endoume*, 31 (47). 137 pp.
- Pianka E.R. 1970. On r-and k-selection. *Amer.Nat.*, 104: 592-597
- Petrovic S., Semencic L., Ozetic B., Orzetic M. 2004. Seasonal variations of physiological and cellular biomarkers and their use in the biomonitoring of north Adriatic coastal waters (Croatia). *Mar. Poll. Bull.*, 49 (9-10): 713-720.
- Pielou E.C. 1974. *Population and Community Ecology: Principles and Methods*. Gordon and Breach Sci. Publ., New York. 424 pp.
- Politou C.Y., Maiorano P., D'Onghia G., Mytilineou C. 2005. Deep-water decapod crustaceans fauna of the Eastern Ionian Sea. *Belg. J. Zool.*, 135 (2): 235-241.
- Poppe G.T., Goto Y. 1991. *European Seashells (Polyplacophora, Caudofoveata, Solenogaster, Gastropoda). Vol. I*. Publ. by V.C. Hemmen, Grillparzerstr. 22, D-6200 Wiesbaden, Federal Republic of Germany. 352 pp.
- Poppe G.T., Goto Y. 1993. *European seashells. Vol. II (Scaphopoda, Bivalvia, Cephalopoda)*. Hemmen V.C. (Ed.), Germany. 221 pp.
- Porte C., Solè M., Albaiges J., Livingstone D.R. 1991. Responses of mixed-function oxygenase and antioxidant enzymes system of *Mytilus* sp. to organic pollution. *Comp. Biochem. Physiol.*, 100: 138-186.
- Regoli F., Principato G.B., Bertoli E., Nigro M., Orlando E. 1997. Biochemical characterization of the antioxidant system in the scallop *Adamussium colbecki*, a sentinel organism for monitoring the Antarctic environment. *Polar Biol.*, 17: 251-258.
- Rinelli P., Spanò N. 1997. Distribuzione di crostacei decapodi ed echinodermi di ambienti detritici insulari. *Biol. Mar. Medit.*, 4: 440-442.
- Salen-Picard C. 1985. Indicateurs biologiques et sédimentation en milieu circalittoral Méditerranéen. *Rapp. p. v. Réu. Comm. Int. pour l'Explor. Sci. Mer Médit.*, 29: 5.
- Scarcella G., Grati, F., Polidori, P., Bolognini, L., Domenichetti, F., Fabi, G. 2011. Comparison of growth rates estimated by otolith reading of *Scorpaena porcus* and *Scorpaena notata* caught at artificial and natural reefs of the northern Adriatic Sea. *Braz. J. Ocean.*, 59: 33-42.
- Schroeder D. M., Ammann J. A., Harding, L. A., MacDonald W., Golden. T. 1999. Relative habitat value of oil and gas production platforms and natural reefs to shallow water fish assemblages in the Santa Maria Basin and Santa Barbara Channel, California. *Proc. Fifth Calif. Islands Symp.*: 493-498.
- Serrano A., Sánchez F., García-Castrillo G. 2006. Epibenthic communities of trawlable grounds of the Cantabrian Sea. *Scientia Marina*, 70S1: 149-159.
- Simkiss K., Schmidt H.G. 1988. Cell mediated responses to metals - Three novel approaches. *Mar. Environ. Res.*, 17 (2-4): 188-191.
- Sjölin A.M., Livingstone D.R. 1997. Redox cycling of aromatic hydrocarbon quinones catalysed by digestive gland microsomes of the common mussel (*Mytilus edulis* L.). *Aquat. Toxic.*, 38: 83-99.
- Sonnier F., Teerling J., Dickson H. 1976. Observations on the Offshore Reef and Platform Fish Fauna of Louisiana. *Copeia*, 1976 (1): 105-111.
- Stanley D.R., Wilson C.A. 1990. A fishery-dependent based study of fish species composition and associated catch rates around oil and gas structures off Louisiana. *Fish. Bull.*, 88: 719-730.

- Stanley D.R., Wilson C.A. 1997. Seasonal and spatial variation in the abundance and size distribution of fishes associated with a petroleum platform in the northern gulf of Mexico. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54: 1166-1176.
- Stefanini B. 2000. *Bioaccumulo di metalli in tracce nel polichete Nereis diversicolor*. Tesi di laurea, Università degli Studi di Pisa. 197 pp.
- Stopper H., Müller S.O. 1997. Micronuclei as biological endpoint for genotoxicity: a minireview. *Toxicology in vitro*, 11: 661-667.
- Strickland J.D.H., Parsons T.R. 1972. A practical handbook of seawater analysis. *Bull. Fish. Res. Bd. Canada*, 167. 310 pp.
- Taylor M.R., Harrison P.T.C. 1999. Ecological effects of endocrine disruption: current evidence and research priorities. *Chemosphere*, 39 (8): 1237-1248.
- Thomas R.E., Harris P.M., Rice S.D. 1999. Survival in air of *Mytilus trossulus* following long-term exposure to spilled Exxon Valdez crude oil in Prince William Sound. *Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.*, 122 (1): 147-52.
- UNESCO. 1983. Algorithms for computation of fundamental properties of seawater, by N.P. Fofonoff and R.C. Millard Jr., *Tech. Pap. Mar. Sci.*, 44. 53 pp.
- UNESCO. 1988. The acquisition, calibration, and analysis of CTD data. *Tech. Pap. Mar. Sci.*, 54. 59 pp.
- U.S. EPA. 1993. *Provisional Guidance for Quantitative Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*. Environmental Criteria and Assessment Office. EPA/600/R-93/089. PB94-116571.
- Viarengo A. 1985. Biochemical effects of trace metals. *Mar. Poll. Bul.*, 16 (4): 153-158.
- Viarengo A. 1989. Heavy metals in marine invertebrates: mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. *CRC Criticals Reviews in Aquatic Science*, 1: 295-317.
- Viarengo A., Canesi L., Pertica M., Livingstone D.R. 1991. Seasonal variations in the antioxidant defense systems and lipid peroxidation of the digestive gland of mussels. *Comp. Biochem. Physiol.*, C100: 187-190
- Viarengo A., Canesi L., Pertica M., Marcinelli G., Accomando R., Smaal A.C., Orunesu M. 1995. Stress on stress response: a simple monitoring tool in the assessment of a general stress syndrome in mussels. *Mar. Environ. Res.*, 39: 245-248.
- Viarengo A., Palmero S., Zanicchi G., Capelli R., Vaissiere R., Orunesu M. 1985. Role of metallothioneins in Cu and Cd accumulation and elimination in the gill and digestive gland cells of *Mytilus galloprovincialis* Lam. *Mar. Environ. Res.*, 16: 23-36.
- Walne P.R. 1976. Experiments on the culture in the sea of the butterflyfish *Venerupis decussata* L. *Aquaculture*, 8(4): 371-381.
- Warwick R.M. 1986. A new method for detecting pollution effects on marine macrobenthic communities. *Marine Biology*, 92: 557-562.
- Warwick R.M., Pearson T.H., Rswahyuni. 1987. Detection of pollution effects on marine macrobenthos: further evaluation of the species abundance/biomass method. *Marine Biology*, 95: 193-200.
- Whitehead P.J.P., Bauchot M.L., Hureau J.C., Nielsen J., Tortonese E. (eds). 1986. *Fishes of the North-Eastern Atlantic and Mediterranean*. UNESCO, Vol. 1-2-3. 1473 pp.
- Winkler L.W. 1888. Die Bestimmung des im Wasser gelosten Sauerstoffes. *Chem. Ber.*, 21: 2843-2855.

- Wright S.W., Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C., Llewellyn C.A., Bjornland T., Repeta D., Welschmeyer N. 1991. Improved HPLC method for the analysis of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 77: 183-196.
- Zar J.H. 1984. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall inc., Englewood Cliff, New Jersey. 620 pp.



*ALLEGATO A*

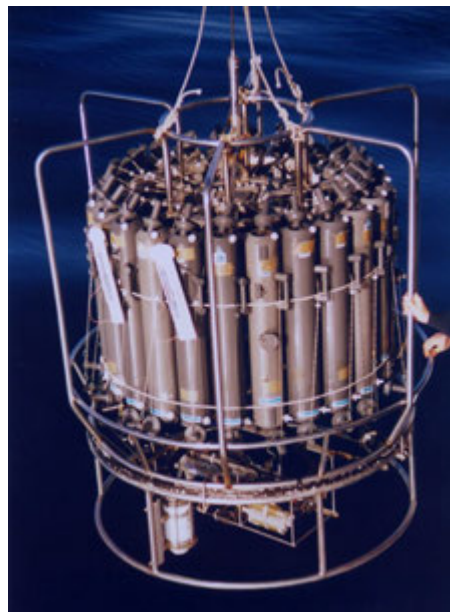
**SCHEDE TECNICHE DELLA STRUMENTAZIONE**

**UTILIZZATA NELLE INDAGINI**

# A1

## INDAGINI IDROLOGICHE

### A1-I SONDA MULTIPARAMETRICA CTD e “ROSETTE”



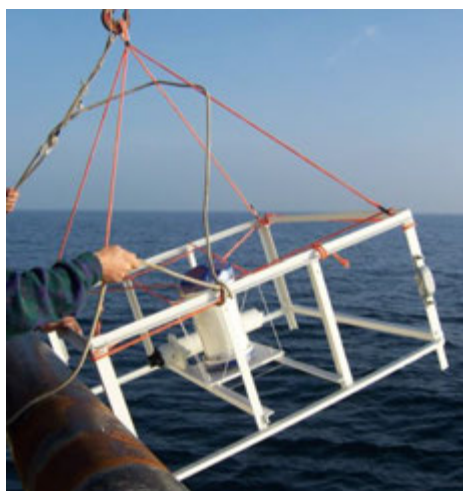
**CTD:** Sea Bird Electronics SBE911plus (frequenza di campionamento 24 Hz) dotato dei seguenti sensori:

Sensore	Costruttore	Modello	Accuratezza	Intervallo di misura	Data calibrazione*
Temperatura	Sea Bird Electronics	SBE 3	$\pm 0,002 \text{ } ^\circ\text{C}$	-5 : +35 $^\circ\text{C}$	21/10/2007
Conducibilità	Sea Bird Electronics	SBE 4	$\pm 0,0003 \text{ S m}^{-1}$	0 : 7 $\text{S m}^{-1}$	21/10/2007
Pompa	Sea Bird Electronics	SBE 5	---	9 : 18 VDC	---
Ossigeno	Sea Bird Electronics	SBE 43	$\pm 0,1 \text{ ml l}^{-1}$	0 : 15 $\text{ml l}^{-1}$	mensile
Fluorimetro	Turner Designs	SCUFA	$\pm 0,01 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$	0,02 : 100 $\mu\text{g l}^{-1}$	15/06/2004
Torbidimetro	Turner Designs	SCUFA	$\pm 0,01 \text{ NTU}$	0,05 : 100 NTU	15/06/2004
Back-scattering	Seapoint Turbidity Meter	Seapoint Turbidity Meter	< 5cm (approx.)	2 : 750 FTU	20/01/2004
Altimetro	Datasonics	PSA-900	$\pm 0,75 \text{ cm}$	0 : 300 m	---

\* = le date si riferiscono all'ultima calibrazione antecedente ai monitoraggi svolti nel 2010.

**Campionatore:** Rosette General Oceanics equipaggiato con 12 bottiglie idrologiche Niskin da 10 lt.

## A1-II ADCP (ACOUSTIC DOPPLER CURRENT PROFILER)



Strumento	Costruttore	Modello	Risoluzione	Accuratezza	Intervallo di misura	Data calibrazione
ADCP	Teledyne RD Instruments	Workhorse Sentinel	0,1 cm s <sup>-1</sup>	± 0.5 cm s <sup>-1</sup>	± 5 m s <sup>-1</sup> (default) ± 20 m s <sup>-1</sup> (maximum)	ad ogni deployment

Sensore montato sull'ADCP	Costruttore	Modello	Risoluzione	Accuratezza	Intervallo di misura	Data calibrazione
Temperatura	Teledyne RD Instruments	Workhorse Sentinel	0,01°	± 0,4 °C	da - 5°C a 45°C	ad ogni deployment

## A1-III TRITINO per la misurazione dell'ossigeno disciolto con il metodo Winkler



Strumento	Costruttore	Modello	Accuratezza	Intervallo di misura	Calibrazione
Tritino	METROHM	Titrimo 702 SET/MET	0,03 ml l <sup>-1</sup>	2 : 6 ml l <sup>-1</sup>	giornaliera

## A1-IV QUAATRO per l'analisi dei sali nutritivi



Strumento	Costruttore	Modello	Accuratezza	Intervallo di misura	Calibrazione
QUAATRO nitriti	BRAN+LUEBBE	QUAATRO	0,023 $\mu\text{g l}^{-1}$	0:28 $\mu\text{g l}^{-1}$	giornaliera
QUAATRO fosfati	BRAN+LUEBBE	QUAATRO	0,036 $\mu\text{g l}^{-1}$	0:124 $\mu\text{g l}^{-1}$	giornaliera
QUAATRO nitrati	BRAN+LUEBBE	QUAATRO	0,07 $\mu\text{g l}^{-1}$	0:140 $\mu\text{g l}^{-1}$	giornaliera
QUAATRO silicati	BRAN+LUEBBE	QUAATRO	0,08 $\text{mg l}^{-1}$	0:1,2 $\text{mg l}^{-1}$	giornaliera
QUAATRO ammonio	BRAN+LUEBBE	QUAATRO	0,033 $\mu\text{M}$	0:10 $\mu\text{M}$	giornaliera

## A1-V HPLC per l'analisi dei pigmenti



Strumento	Costruttore	Modello	Accuratezza	Intervallo di misura	Calibrazione
HPLC	DIONEX	Pompa GP50 Detector PDA100 Colonna C <sub>18</sub> (RF)	0,03 $\text{ml l}^{-1}$	2 : 6 $\text{ml l}^{-1}$	giornaliera

## A2

### INDAGINI FISICHE E CHIMICHE DEI SEDIMENTI

#### A2-I BOX-CORER per il prelievo dei campioni



Materiale	Dimensione scatola campionatore (cm)
Ferro zincato	17x10x24,5h

#### A2-II BILANCIA ELETTRONICA



Strumento	Costruttore	Modello	Sensibilità	Capacità
Bilancia elettronica	Gibertini Elettronica S.r.l.	EU 2000	±0,01 g	1000 g

Le bilance elettroniche sono sensibili all'accelerazione di gravità; pertanto, in accordo con la direttiva 90/384, devono essere calibrate nel luogo di utilizzo con masse tarate in classe F1 che corrispondono a un peso di 200 g.

### A2-III STUFA TERMOSTATA “HIGH PERFORMANCE”



Strumento	Costruttore	Modello	Capacità (litri)	Temperatura (°C)	Precisione (°C)
Stufa termostata	F.Ili Galli G&P	2100	96	50 – 300	±2

Ogni sei mesi viene inserito un termometro per verificare che la temperatura della stufa resti costante. La lettura del termometro viene eseguita ogni 45 minuti per una durata totale della prova di 3 ore. E' accettata una variazione di 2°C rispetto alla temperatura iniziale.

### A2-IV SETACCI



Strumento	Costruttore	Serie	Materiale	Diametro (mm)	Dimensione delle maglie (μ)
Setacci normalizzati	Giuliani Teconologie S.r.l.	ASTM	acciaio inox	100 - 200	63, 125, 250, 500, 1000, 2000, 4000

Periodicamente si verifica che le maglie abbiano mantenuto le dimensioni e la forma originaria e si testa la regolarità delle saldature.

## A2-V DENSIMETRO



Strumento	Costruttore	Serie	Scala (ml)	Divisione (ml)	Zavorra	Taratura (°F)
Densimetro per terreni	Vetrotecnica	Normale ASTM	0,995 – 1,040	0,001	piombo	68/68

Lo strumento non necessita di verifica e taratura. Viene sostituito quando la scala graduata non è più visibile.

## A2-VI GAS-CROMATOGRAFO DOPPIA COLONNA, RIVELATORE FID - PERKIN ELMER SIGMA3B – DUAL FID



Il controllo interno della taratura dello strumento viene effettuato preliminarmente all'avvio di ogni indagine commissionata. Il controllo esterno e l'eventuale taratura ordinaria sono condotti annualmente da un Tecnico incaricato dalla Ditta costruttrice, quando il controllo interno risulta sfavorevole. L'ultimo controllo ordinario da parte di un Tecnico Perkin Elmer è avvenuto nel giugno 2004.

## **QUANTIFICAZIONE DEI METALLI PESANTI NEI SEDIMENTI**

Prima dell'analisi di ogni metallo viene eseguita una retta di calibrazione (ottenuta per diluizioni successive), idonea alle concentrazioni dei campioni da determinare, mediante l'impiego di soluzioni standard mono o multielemento a concentrazione nota.

Tutti i parametri strumentali sono inoltre ottimizzati tramite una risposta tipica strumentale conforme a quella fornita dalla casa costruttrice.

### **A2-VII DMA-80 analizzatore diretto per la misurazione del MERCURIO**



Spettrofotometro ad assorbimento atomico. Lunghezza d'onda 253.65 nm. Trattamento del campione tramite cicli di essiccamento e combustione totalmente programmabili via terminale con schermo touch-screen. Lampada impiegata a vapore di mercurio a bassa pressione. Calibrazione eseguita con soluzioni standard o materiali di riferimento solidi.



## **A2-VIII    VARIAN SPECTRA AA-220 Z per la misurazione di CADMIO e PIOMBO**



Spettrofotometro ad assorbimento atomico usato mediante l'impiego del fornetto di grafite con piattaforma pirolitica. La correzione del rumore di fondo è assicurata dalla correzione di background trasversa "Zeeman" e dall'interpolazione polinomiale per la correzione delle interferenze. Al fine di ridurre il rumore di fondo e il limite di rivelabilità e di incrementare la sensibilità vengono utilizzate lampade monoelemento a catodo cavo.

## **A2-IX    VARIAN LIBERTY AX ICP-AES per la misurazione di ALLUMINIO, BARIO, CROMO, NICHEL VANADIO E ZINCO**



Spettrofotometro ad emissione atomica al plasma ad accoppiamento induttivo (ICP) e lettura sequenziale. Il sistema di raccolta della radiazione emessa dal plasma è di tipo assiale. Il generatore di radiofrequenze è 40 MHz. Per il raffreddamento del plasma viene impiegato argon ultrapuro.

## A3

### INDAGINI SULLA COMUNITA' BENTONICA

#### A3-I BENNA VAN VEEN



Materiale	superficie di sedimento campionata (m <sup>2</sup> )
Acciaio	0,095

#### A3-II SETACCIO



Materiale	Lato maglia (mm)
Acciaio inox	0,5

**A3-III MICROSCOPIO STEREO ZEISS STEMI 2000-C**



Range dello zoom: 0,65x...5,0x.

**A3-IV MICROSCOPIO OTTICO ZEISS AXIOLAB**



Obiettivi in dotazione: 10x, 40x, 100x.

### A3-V BILANCIA ANALITICA

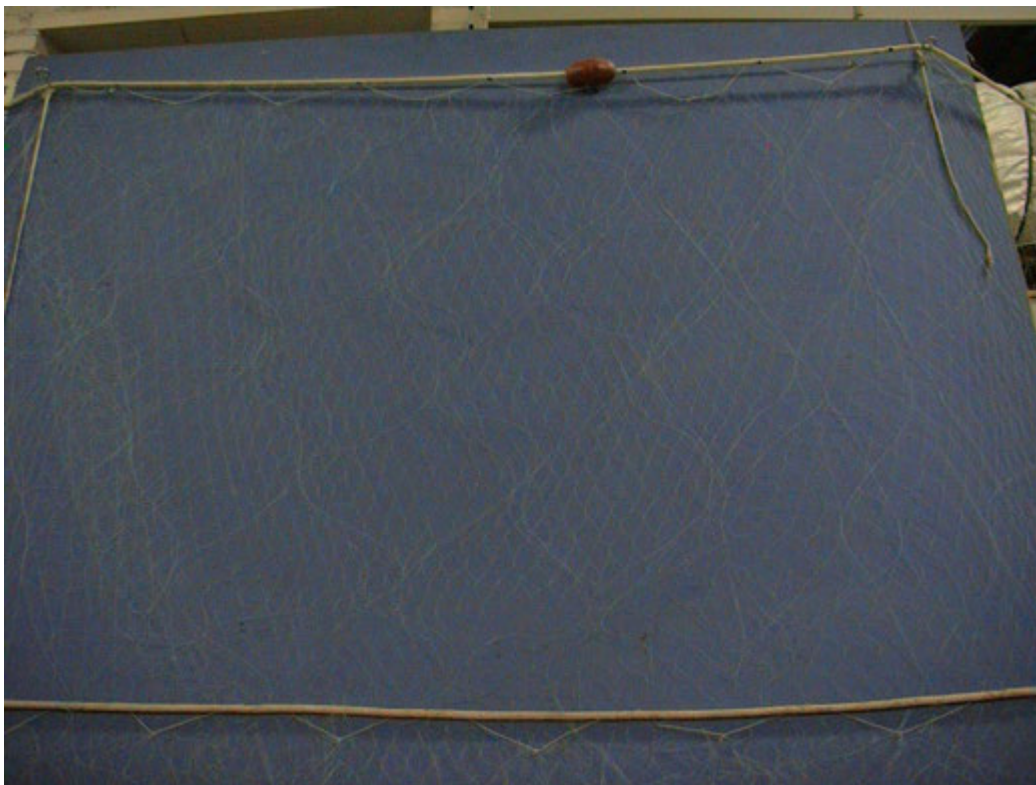


Strumento	Costruttore	Modello	Sensibilità	Capacità
Bilancia elettronica	Mettler	AE 100	$\pm 0,1$ mg	162 g

## A4

### INDAGINI SULLA COMUNITA' ITTICA

#### A5-I RETE TREMAGLIO



Lunghezza totale: 500 m

	<b>Pannello interno</b>	<b>Pannello esterno</b>
materiale	Monofilamento di poliammide	Monofilamento di poliammide
altezza (m)	6	3
apertura maglia stirata (mm)	72	400
diametro filo (mm)	0,18	0,30
rapporto di armamento	0,35	0,50

	<b>Lima dei galleggianti</b>	<b>galleggianti</b>	<b>Lima dei piombi</b>
materiale	Poliammide		
diametro (mm)	7		
quantità ogni metro		1	
tipo		B19-70	
spinta (g)		55	
peso (g/m)			120

## A5

### RICERCA DI INQUINANTI IN *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*

#### A5-I STUFA termostata Binder ED53



Strumento	Costruttore	Modello	Capacità (litri)	Temperatura (°C)	Precisione (°C)
Stufa termostata	Binder	ED53	53	+5 ÷ +300	±2%

Termometro interno taratura bimestrale.

## **A5-II MICROSCOPIO invertito Carl Zeiss AxioCam 135 motorizzato con telecamera Carl Zeiss Axiovert HS**



Main features	Highly stable pyramid shape and low center of gravity for vibration-free work, min. 6 adaptation options (12 drilled holes) e.g. for micromanipulators Optovar revolver 3x motorized 6x objective nosepiece for HD DIC, motorized
Optics	ICS optics for finest image quality: special application objectives with long working distance
Objectives	Reflected light: Epiplan, Epiplan-Neofluar, EC Epiplan-Neofluar Transmitted light: Achromplan, Plan-Neofluar Special: LD-Epiplan, LD-EC Epiplan-Neofluar (reflected light objective with long working distance)
Modules	Polarization optical shearing interferometer (TIC) to measure reflected light-phase objects(levels, differences in height), MHT 10, DeepView
Illumination Reflected light	12V,100W halogen HBO 50W mercury vapor short arc lamp HBO 100W mercury vapor short arc lamp XBO 75W xenon lamp
Reflected light/filter slider	3 positions for filters with 25 mm diameter
Reflector turret	5 positions, manual or motorized, exchangeable
Light Trap	High contrast, minimized stray light
Transmitted light	6V, 30W 12V, 100W LCD-display, light manager

### **TelecameraAxiovert HS**

Sensore	Sony ICX 414, progressives readout
Risoluzione	660(H) x 494 (V) = 330 K Pixels
Pixel Size	9.9 µm (H) x 9.9 µm (V)
Dimensione sensore	6,5 mm x 4,9 mm, equivalent to ½
Sensibilità spettrale	HSc appr. 400 bis 720 nm con BG 40 IR-blocking filter HSm appr. 350 bis 1000 nm con BK7 protective cover glass
Dynamic Range	Typical SNR 65 dB = 1 : 1800
Noise	1 17 e
Dark Current	0,7 LSB/s, equivalenti a to 5,4 e / Pixel/s
Fotogrammi / sec	Appr. 54 fotogrammi/s in risoluzione normale fino a . 140 fotogrammi/s a
Tempo di esposizione	da 0,25 ms fino a 60 s
Color optimisation	Available for color model, default white point 3200 k

### A5-III CENTRIFUGA Beckman Allegra 25R



Strumento	Costruttore	Modello	Range velocità	Range temperatura (°C)	Precisione	Diametro rotore
Centrifuga	Beckman	Allegra 25R	100-25000 rpm	0 – 50 piena velocità -30-40 a veloc. ridotta	±1	215 mm

### A5-IV SPETTROFOTOMETRIA Shimadzu UV-1700 Pharma



Strumento	Costruttore	Serie	Lampada	Range lunghezza d'onda	Accuratezza lung. d'onda	Range fotometrico	Accuratezza fotometrica
Spettrofotometro	Shimadzu	UV 1700 Pharma	UV-VIS	195-1100 nm)	±0,5 nm	Trasmittanza 0-100% T Assorbanza 0-4 A	±0,005 A

Taratura giornaliera ed esecuzione di curva standard di riferimento.



## A5-V CRIOSTATO Leica CM1900



Strumento	Costruttore	Serie	Cabina	Refrigerante
Criostato	Leica	1900	Refrigerata fino a -50C°	Freon

Ultima taratura eseguita nel 2005.

## A5-VI MINERALIZZATORE Milestone Ethos 900



TIPO DI STRUMENTO: Forno **Mineralizzatore /estrattore**

**COSTRUTTORE Milestone**

**SERIE: 900**

**VOLUME DI INIEZIONE: 6 posizioni da 200 ml**

**POTENZA SORGENTE: fino a 1600w**

**SOFTWARE DI CONTRIOLLO: EasyControl software®**

**A5-VII SPETTROFOTOMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO**  
**Perkin-Elmer AAS 3030 in fiamma aria-acetilene (analisi di Pb, Ni, Cr tot., Cu e Cd).**



TIPO DI STRUMENTO: Spettrofotometro ad assorbimento atomico a doppio raggio con correttore di fondo Zeeman 4100 Z.  
COSTRUTTORE: Perkin-Elmer.  
SERIE: AAS 3030  
LAMPADA: a catodo cavo.

**ACCESSORI OPZIONALI:**

**A5-VIIa**

Flow injection Mercury system *FIMS 400*, Perkin-Elmer per il dosaggio/analisi del Hg



**A5-VIIb**

Flow Injection Analysis System (*FIAS 400*, Perkin Elmer) per il dosaggio/analisi dell'As



## **A5-VIII GAS – CROMATOGRAFIA FID (Flame Ionization Detector Perkin Elmer) per l'analisi degli Idrocarburi Alifatici**



TIPO DI STRUMENTO: **gas cromatografo**  
COSTRUTTORE **Perkin Elmer**  
SERIE **GC FID Autosystem**  
TIPO DI DETECTOR: **FID (Flame Ionized Detector)**  
TECNICA DI INIEZIONE: **Splitless**  
VOLUME DI INIEZIONE: **2  $\mu$ l**  
CARRIER: **Elio**  
TIPO DI COLONNA: **Capillare**  
LUNGHEZZA: **30 metri**  
DIAMETRO: **0.2 mm**  
FASE: **SOPB-5**  
SPESSORE DEL FILM: **0.2  $\mu$ m**  
INTEGRAZIONE ED ANALISI DEL DATO: **Software TotalCrom Perkin Elmer**

### **A5-VIIIa SUPELCO SPB-5**

CARATTERISTICHE TECNICHE: **Lunghezza 30m,  $\varnothing$  0.32mm**  
MATRICE-Fase stazionaria **0.25mm, 95% difenil-, 5% dimetil-silicone)**



## A5-IX ESTRAZIONE LIQUIDO-SOLIDO A FLUSSO tipo Soxhlet



**Materiale:** Apparato elevatore, isomantello, pallone da 250 ml, un apparato di Soxhlet con refrigerante apposito, un ditale di carta, pinze e morsetti, due tubi di gomma, moderatore di ebollizione (sfere di pyrex), cilindro graduato da 250 ml, solvente organico d'estrazione, cilindretto graduato da 10 ml, pipette Pasteur, cristallizzatore, piastra riscaldante, ancoretta magnetica, imbuto, tettarelle, cotone, provetta o protettone da 250 ml.

## **A5-X CROMATOGRAFIA LIQUIDA Waters 996 PDA HPLC System (liquid chromatograph)**



TIPO DI STRUMENTO: **Cromatografo per cromatografia liquida ad alte pressioni (HPLC).**  
COSTRUTTORE **Waters**  
SERIE **996 PDA**  
TIPO DI DETECTOR: **Fluorescenza (Waters® 474 Scanning Fluorescence Detector) e UV-Visibile (rivelatore a serie di fotodiodi Waters® PDA 996)**  
VOLUME DI INIEZIONE: **5 µl**  
CARRIER: **Acqua/Acetonitrile**  
TIPO DI COLONNA: **Supelcosil LC-PAH**  
LUNGHEZZA: **25 cm**  
DIAMETRO: **4.5 mm**  
FASE: **C-18**  
PARTICLE SIZE: **5 µm**  
INTEGRAZIONE ED ANALISI DEL DATO: **Waters Millennium software®**

## **A5-Xa SUPELCOSIL™ LC-PAH HPLC Column (colonna per cromatografia liquida ad alte prestazioni-HPLC)**



CARATTERISTICHE FISICHE: **5 µm diametro granuli, lunghezza × I.D. 25 cm × 4.6 mm**  
MATRICE (supporto): **gel di silice a forma sferica**  
(Fase stazionaria): **octadecyl silice**  
diametro granuli: **5 µm**  
dimensione pori: **120 Å**

# ***ALLEGATO B***

## **SCHEDE GRANULOMETRICHE dei TRANSETTI A e B** **e dei siti di CONTROLLO K1, K2, K3 e K4** **INVERNO 2010**



## Stazione A1 (250 m NW)

Parametri Fisici		
Peso secco (g)	P <sub>s</sub>	151,89
Peso umido (g)	P <sub>u</sub>	197,12
Peso specifico	G	n.d.
Peso di volume (g/cm <sup>3</sup> )	γ	n.d.
Peso di vol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	γ <sub>s</sub>	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

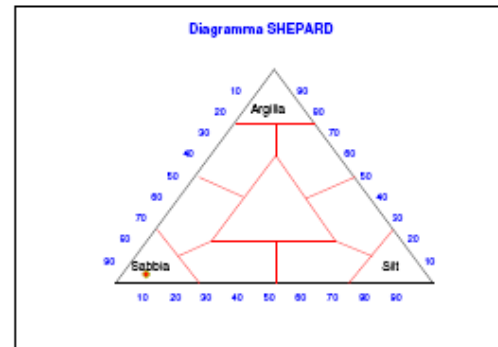
Parametri Statistici		
Media	M <sub>e</sub>	2,66
Classazione	C <sub>u</sub>	0,80
Asimmetria	S <sub>ku</sub>	0,17
Appuntimento	K <sub>G</sub>	2,52
Mediana	M <sub>D</sub>	2,68

Percentile	φ
5°	1,92
16°	2,15
25°	2,29
50°	2,68
75°	3,24
84°	3,75
95°	7,65

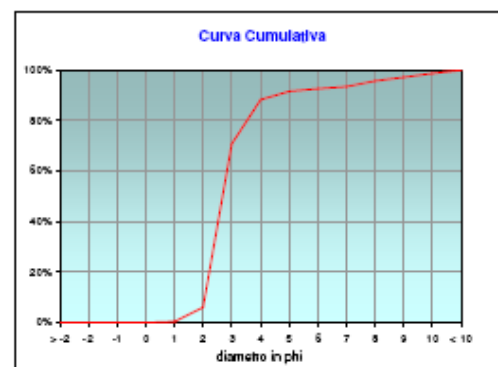
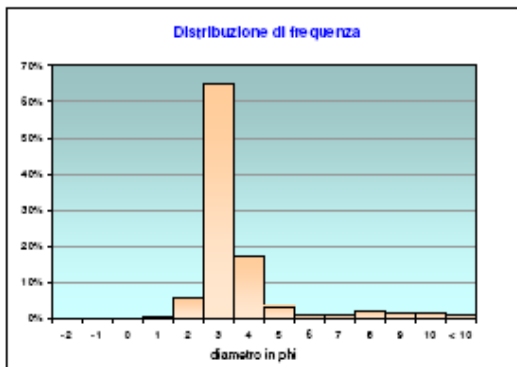
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiala	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,55	1	500	0,36%	0,36%
	8,63	2	250	5,68%	6,04%
	99,95	3	125	64,76%	70,80%
	26,59	4	62,5	17,51%	88,31%
Limo	5,11	5	31	3,36%	91,67%
	1,52	6	15,6	1,00%	92,67%
	1,31	7	7,8	0,86%	93,53%
Argilla	3,44	8	3,9	2,26%	95,80%
	2,18	9	2,0	1,43%	97,23%
	2,40	10	0,98	1,58%	98,81%
	1,80	< 10	< 0,99	1,19%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiala	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	88,31%	7,49%	4,20%

**Note**  
17,11 g di materiale organogeno (conchiglie)



Classificazione	
Shepard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classato
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	molto leptocurtica



## Stazione A2 (120 m NW)

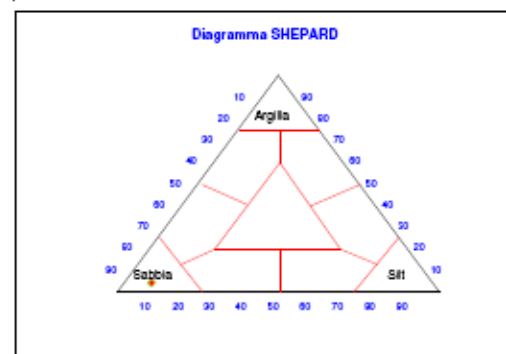
Parametri Fisici		
Peso secco (g)	Ps	153,96
Peso umido (g)	Pu	212,59
Peso specifico	G	n.d.
Peso di volume (g/cm <sup>3</sup> )	$\gamma$	n.d.
Peso di vol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	$\gamma_s$	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

Parametri Statistici			Percentile	
Media	$M_e$	2,83	5°	1,76
Classazione	$c_u$	0,79	16°	2,14
Asimmetria	$S_{ka}$	0,19	25°	2,27
Appuntimento	$K_G$	2,91	50°	2,63
Mediana	Md	2,63	75°	2,99
			84°	3,72
			95°	6,90

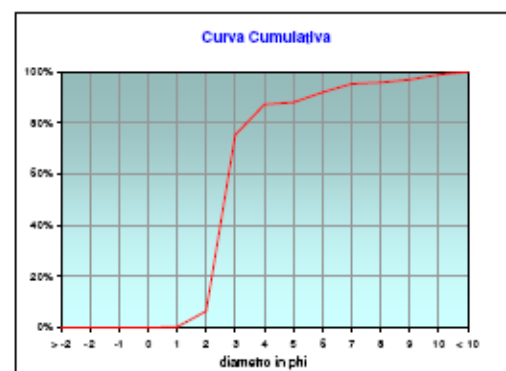
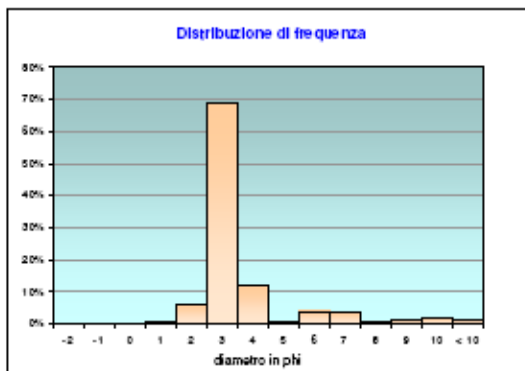
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiala	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,53	1	500	0,34%	0,34%
	9,49	2	250	6,16%	6,50%
	106,18	3	125	68,96%	75,47%
	19,29	4	62,5	11,87%	87,34%
Limo	1,28	5	31	0,83%	88,18%
	5,99	6	15,6	3,89%	92,07%
	5,04	7	7,8	3,27%	95,34%
	0,76	8	3,9	0,50%	95,84%
Argilla	1,80	9	2,0	1,17%	97,00%
	3,09	10	0,98	2,01%	99,01%
	1,52	< 10	< 0,98	0,99%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiala	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	87,34%	8,50%	4,16%

**Note**  
20,65 g di materiale organogeno (conchiglie)



Classificazione	
Shepard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classato
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	molto leptocurtica





## Stazione A3 (60 m NW)

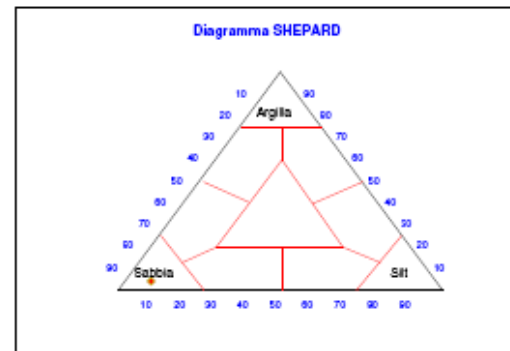
Parametri Fisici		
Peso secco (g)	P <sub>s</sub>	152,94
Peso umido (g)	P <sub>u</sub>	213,43
Peso specifico	G	n.d.
Peso di volume (g/cm <sup>3</sup> )	γ	n.d.
Peso di vol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	γ <sub>s</sub>	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

Parametri Statistici			Percentile	
Media	M <sub>e</sub>	2,81	5°	1,75
Classazione	c <sub>p</sub>	0,77	16°	2,14
Asimmetria	S <sub>sp</sub>	0,18	25°	2,27
Appuntimento	K <sub>G</sub>	3,12	50°	2,63
Mediana	M <sub>d</sub>	2,63	75°	2,99
			84°	3,67
			95°	7,23

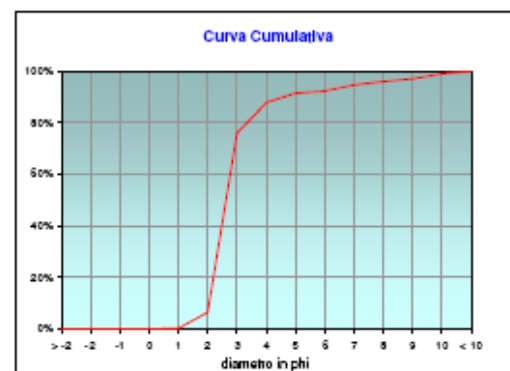
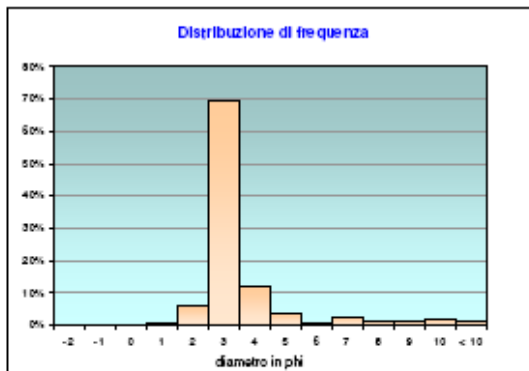
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiala	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,53	1	500	0,34%	0,34%
	9,49	2	250	6,20%	6,55%
	106,18	3	125	69,42%	75,97%
Limo	19,29	4	62,5	11,95%	87,92%
	5,55	5	31	3,62%	91,55%
	1,23	6	15,6	0,81%	92,36%
Argilla	3,58	7	7,8	2,34%	94,70%
	2,04	8	3,9	1,32%	96,03%
	1,70	9	2,0	1,11%	97,14%
	2,99	10	0,98	1,92%	99,06%
	1,44	< 10	< 0,98	0,94%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiala	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	87,92%	8,11%	3,97%

**Note**  
20,65 g di materiale organogeno (conchiglie)



Classificazione	
Shepard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classato
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	estremamente leptocurtica



## Stazione A4 (30 m NW)

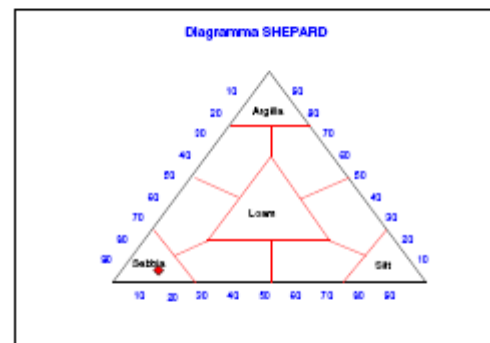
Parametri Fisici		
Peso secco (g)	P <sub>s</sub>	162,95
Peso umido (g)	P <sub>u</sub>	223,17
Peso specifico	G	n.d.
Peso divolume (g/cm <sup>3</sup> )	γ	n.d.
Peso divol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	γ <sub>s</sub>	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

Parametri Statistici			Percentile	
Media	M <sub>v</sub>	3,04	5°	1,80
Classazione	c <sub>v</sub>	1,07	16°	2,15
Asimmetria	S <sub>sk</sub>	0,26	25°	2,29
Appuntimento	K <sub>G</sub>	2,62	50°	2,67
Mediana	M <sub>d</sub>	2,67	75°	3,33
			84°	4,28
			95°	8,48

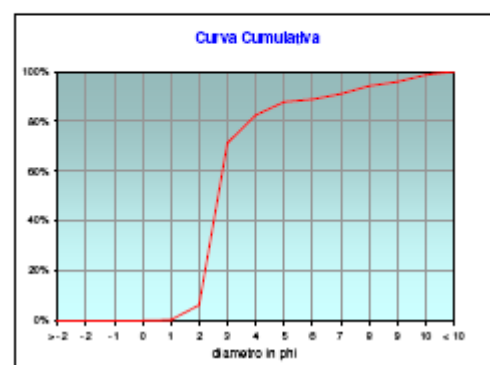
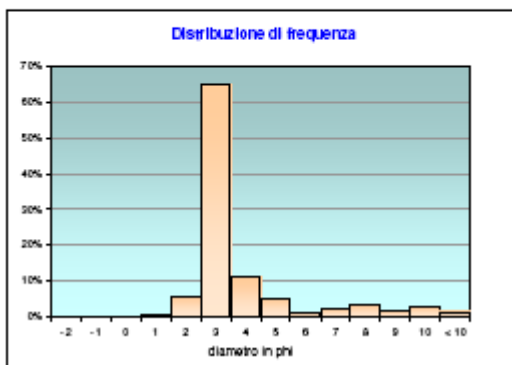
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiata	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,53	1	500	0,32%	0,32%
	9,49	2	250	5,82%	6,14%
	106,18	3	125	65,16%	71,30%
	18,28	4	62,5	11,22%	82,52%
Limo	8,56	5	31	5,25%	87,77%
	1,79	6	15,6	1,10%	88,87%
	3,46	7	7,8	2,13%	91,00%
	5,31	8	3,9	3,26%	94,25%
Argilla	2,62	9	2,0	1,61%	95,86%
	4,52	10	0,98	2,77%	98,64%
	2,22	< 10	< 0,38	1,36%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiaia	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	82,52%	11,73%	5,75%

Note
20,65 g di materiale organogeno (conchiglie)



Classificazione	
Shepard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	mal classato
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	molto leptocurtica



## Stazione A5 (PIATTAFORMA)

Parametri Fisici		
Peso secco (g)	P <sub>s</sub>	163,85
Peso umido (g)	P <sub>u</sub>	213,68
Peso specifico	G	n.d.
Peso divolume (g/cm <sup>3</sup> )	γ	n.d.
Peso divol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	γ <sub>s</sub>	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

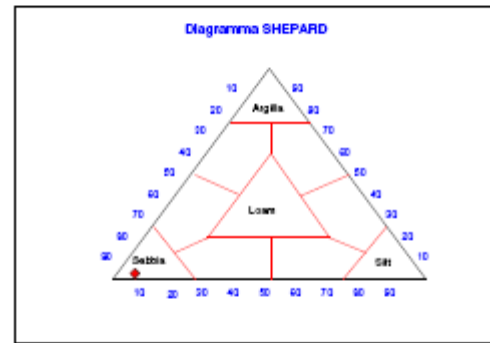
Parametri Statistici		
Media	M <sub>0</sub>	2,75
Classazione	σ <sub>u</sub>	0,87
Asimmetria	S <sub>ka</sub>	0,14
Appuntimento	K <sub>G</sub>	2,62
Mediana	M <sub>d</sub>	2,62

Percentile		φ
5°		1,91
16°		2,15
25°		2,27
50°		2,62
75°		2,97
84°		3,49
95°		5,40

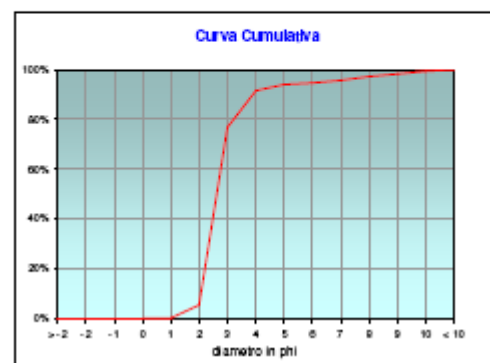
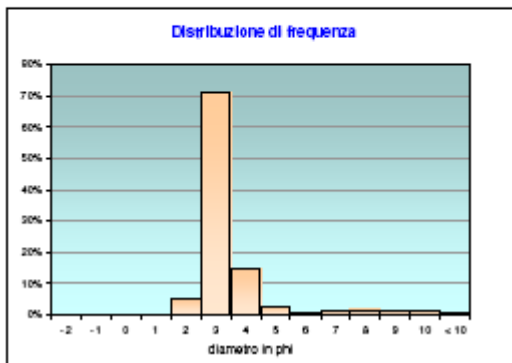
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiata	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,40	1	500	0,25%	0,25%
	8,53	2	250	5,21%	5,45%
	116,93	3	125	71,37%	76,82%
	24,06	4	62,5	14,68%	91,50%
Limo	4,18	5	31	2,55%	94,06%
	0,88	6	15,6	0,53%	94,59%
	1,69	7	7,8	1,03%	95,62%
Argilla	2,59	8	3,9	1,58%	97,21%
	1,76	9	2,0	1,07%	98,28%
	1,88	10	0,98	1,15%	99,43%
	0,94	< 10	< 0,98	0,57%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiaia	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	91,50%	5,70%	2,79%

**Note**  
14,33 g di materiale organogeno (conchiglia)



Classificazione	
Shepard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classato
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	molto leptocurtica



## Stazione A6 (30 m SE)

Parametri Fisici		
Peso secco (g)	Ps	160,64
Peso umido (g)	Pu	209,06
Peso specifico	G	n.d.
Peso di volume (g/cm <sup>3</sup> )	$\gamma$	n.d.
Peso di vol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	$\gamma_s$	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

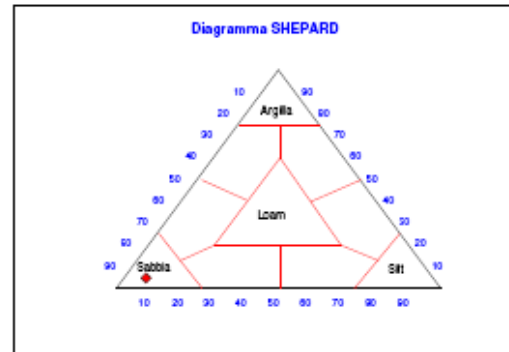
Parametri Statistici		
Media	$M_e$	2,81
Classazione	$c_u$	0,75
Asimmetria	$S_{sk}$	0,18
Appuntimento	$K_G$	3,95
Mediana	$M_d$	2,69

Percentile	$\phi$
5°	1,91
16°	2,15
25°	2,28
50°	2,69
75°	2,99
84°	3,65
95°	7,79

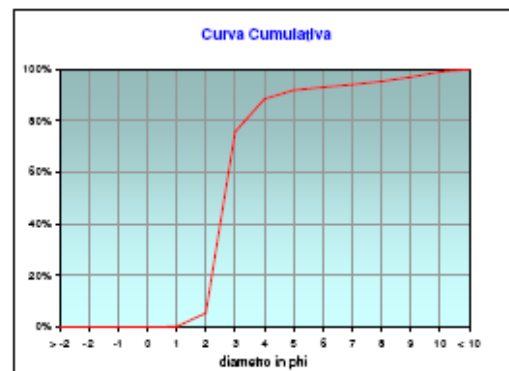
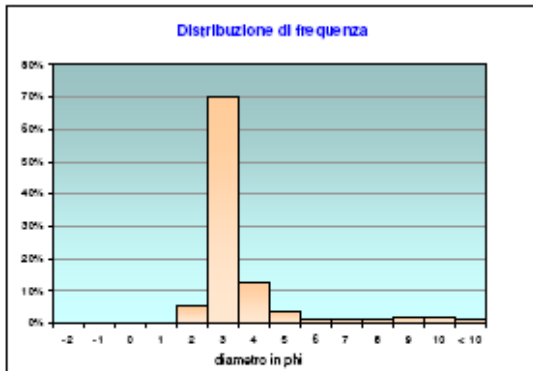
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiala	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,40	1	500	0,25%	0,25%
	8,43	2	250	5,25%	5,50%
	112,78	3	125	70,21%	75,70%
Limo	20,66	4	62,5	12,86%	88,56%
	5,37	5	31	3,34%	91,91%
	1,93	6	15,6	1,20%	93,11%
	1,61	7	7,8	1,00%	94,11%
Argilla	1,96	8	3,9	1,22%	95,33%
	2,75	9	2,0	1,71%	97,04%
	3,32	10	0,98	2,06%	99,11%
	1,43	< 10	< 0,98	0,89%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiala	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	88,56%	6,77%	4,67%

**Note**  
14,13 g di materiale organogeno (conchiglie)



Classificazione	
Shepard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classato
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	estremamente leptocurtica



## Stazione A7 (60 m SE)

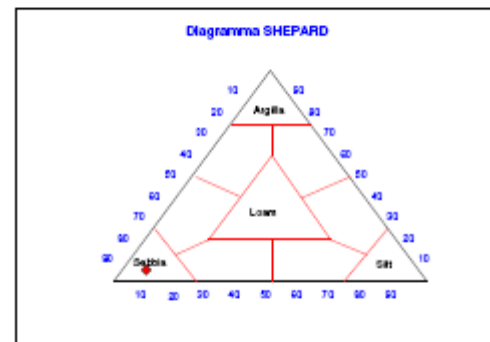
Parametri Fisici		
Peso secco (g)	P <sub>s</sub>	150,09
Peso umido (g)	P <sub>u</sub>	201,97
Peso specifico	G	n.d.
Peso divolume (g/cm <sup>3</sup> )	γ	n.d.
Peso divol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	γ <sub>s</sub>	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

Parametri Statistici			Percentile	
Media	M <sub>y</sub>	2,85	5°	1,79
Classazione	c <sub>w</sub>	0,81	16°	2,14
Asimmetria	S <sub>w</sub>	0,19	25°	2,28
Appuntimento	K <sub>G</sub>	3,42	50°	2,64
Mediana	M <sub>d</sub>	2,64	75°	3,05
			84°	3,76
			95°	8,29

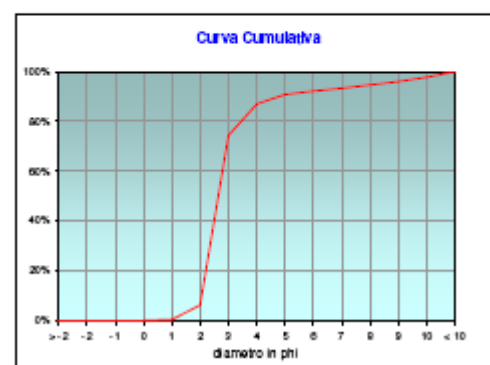
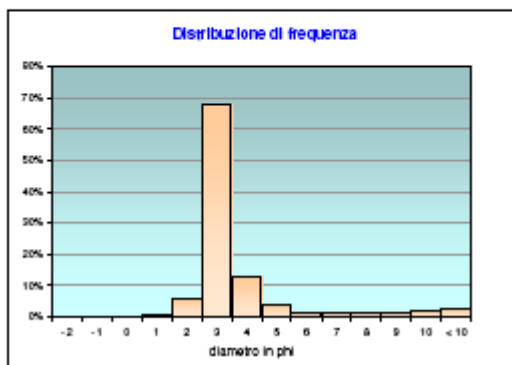
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiala	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,55	1	500	0,36%	0,36%
	8,77	2	250	5,84%	6,21%
	102,21	3	125	68,10%	74,31%
	19,04	4	62,5	12,69%	87,00%
Limo	5,70	5	31	3,80%	90,80%
	2,05	6	15,6	1,36%	92,16%
	1,71	7	7,8	1,14%	93,30%
Argilla	1,97	8	3,9	1,32%	94,62%
	2,00	9	2,0	1,33%	95,95%
	2,61	10	0,98	1,74%	97,69%
	3,47	< 10	< 0,98	2,31%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiaia	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	87,00%	7,62%	5,38%

**Note**  
18,96 g di materiale organogeno (conchiglie)



Classificazione	
Shepard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classato
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	estremamente leptocurtica



## Stazione A8 (120 m SE)

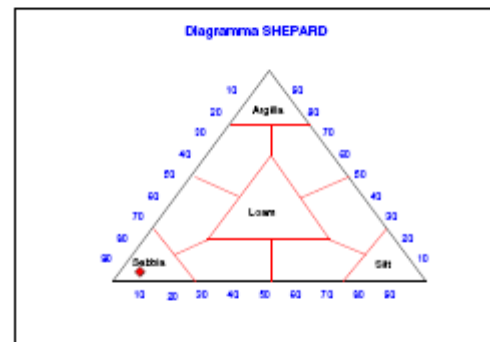
Parametri Fisici		
Peso secco (g)	P <sub>s</sub>	171,85
Peso umido (g)	P <sub>u</sub>	232,47
Peso specifico	G	n.d.
Peso divolume (g/cm <sup>3</sup> )	γ	n.d.
Peso divol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	γ <sub>s</sub>	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

Parametri Statistici			Percentile	
Media	M <sub>a</sub>	2,79	5°	1,82
Classazione	σ <sub>a</sub>	0,73	16°	2,14
Asimmetria	S <sub>a</sub>	0,17	25°	2,27
Appuntimento	K <sub>G</sub>	3,37	50°	2,63
Mediana	M <sub>d</sub>	2,63	75°	2,98
			84°	3,60
			95°	7,67

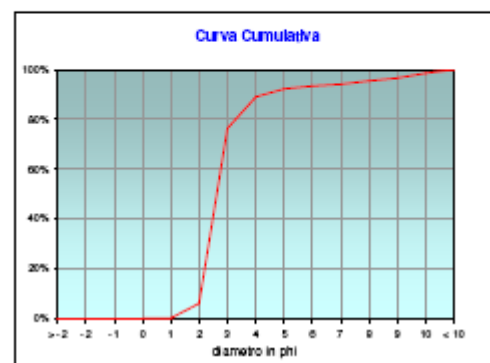
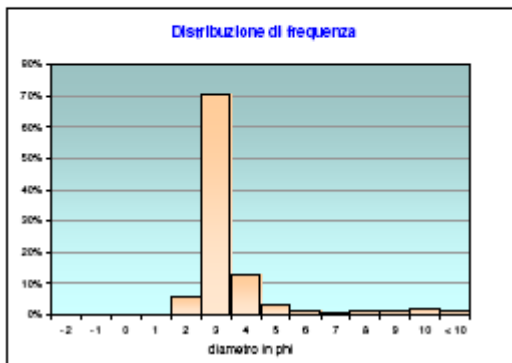
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiala	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,44	1	500	0,25%	0,25%
	9,96	2	250	5,80%	6,05%
	120,82	3	125	70,31%	76,36%
	21,78	4	62,5	12,67%	89,03%
Limo	5,51	5	31	3,21%	92,24%
	1,98	6	15,8	1,15%	93,39%
	1,19	7	7,8	0,69%	94,08%
Argilla	2,37	8	3,9	1,38%	95,46%
	1,93	9	2,0	1,12%	96,58%
	3,45	10	0,98	2,01%	98,59%
	2,43	< 10	< 0,98	1,41%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiaia	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	89,03%	6,43%	4,54%

**Note**  
16,08 g di materiale organogeno (conchiglie)



Classificazione	
Shepard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classato
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	estremamente leptocurtica



## Stazione A9 (250 m SE)

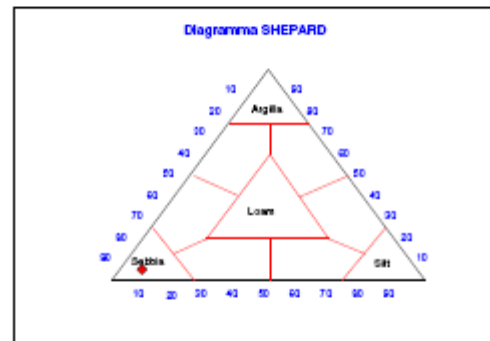
Parametri Fisici		
Peso secco (g)	P <sub>s</sub>	162,55
Peso umido (g)	P <sub>u</sub>	222,72
Peso specifico	G	n.d.
Peso divolume (g/cm <sup>3</sup> )	γ	n.d.
Peso divol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	γ <sub>s</sub>	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

Parametri Statistici		Percentile	
Media	M <sub>w</sub>	2,89	5°
Classazione	c <sub>w</sub>	0,79	16°
Asimmetria	S <sub>w</sub>	0,18	25°
Appuntimento	K <sub>g</sub>	3,38	50°
Mediana	M <sub>d</sub>	2,64	75°
			84°
			95°

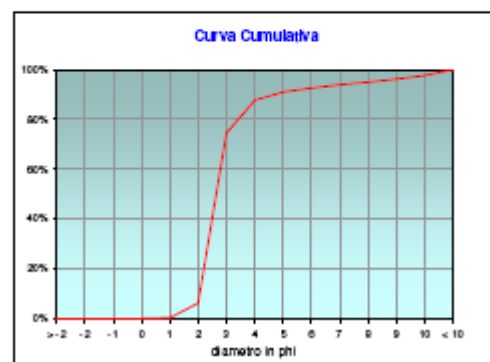
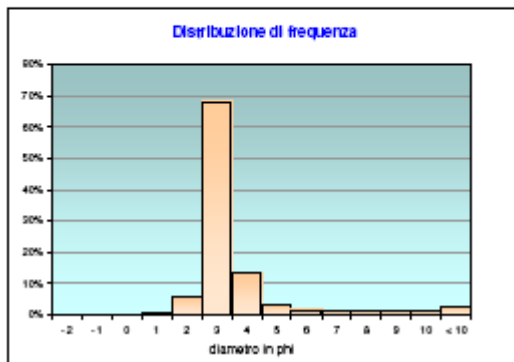
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiaia	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,48	1	500	0,29%	0,29%
	9,61	2	250	5,91%	6,20%
	111,11	3	125	68,35%	74,56%
Limo	21,42	4	62,5	13,18%	87,73%
	5,39	5	31	3,31%	91,05%
	2,53	6	15,6	1,56%	92,60%
	2,19	7	7,8	1,35%	93,95%
Argilla	1,58	8	3,9	0,97%	94,92%
	2,04	9	2,0	1,26%	96,18%
	2,28	10	0,98	1,41%	97,59%
	3,98	< 10	< 0,38	2,42%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiaia	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	87,73%	7,19%	5,08%

**Note**  
18,35 g di materiale organogeno (conchiglie)



Classificazione	
Shapard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classato
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	estremamente leptocurtica



## Stazione B1 (250 m NE)

Parametri Fisici		
Peso secco (g)	Ps	165,08
Peso umido (g)	Pu	221,25
Peso specifico	G	n.d.
Peso di volume (g/cm <sup>3</sup> )	$\gamma$	n.d.
Peso di vol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	$\gamma_s$	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

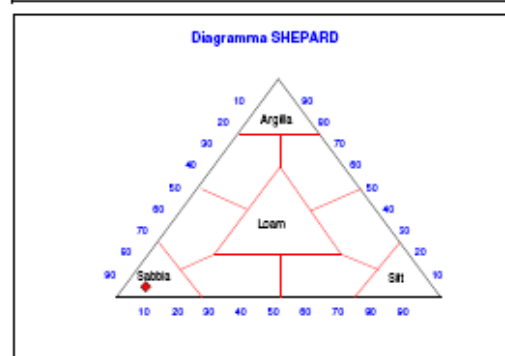
Parametri Statistici		
Media	$M_e$	2,81
Classazione	$c_u$	0,76
Asimmetria	$S_{sk}$	0,17
Appuntimento	$K_G$	3,23
Mediana	$M_d$	2,64

Percentile	$\phi$
5°	1,76
16°	2,14
25°	2,27
50°	2,64
75°	3,02
84°	3,67
95°	7,67

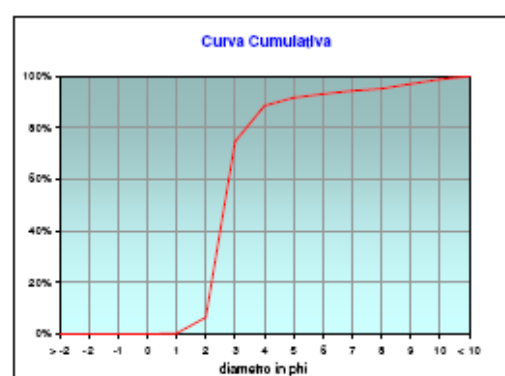
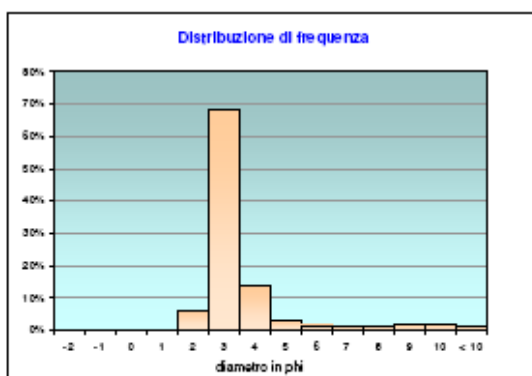
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiala	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,44	1	500	0,26%	0,26%
	10,27	2	250	6,22%	6,48%
	112,61	3	125	68,21%	74,70%
Limo	23,02	4	62,5	13,94%	88,64%
	5,06	5	31	3,07%	91,71%
	2,38	6	15,6	1,44%	93,15%
	2,06	7	7,8	1,25%	94,40%
Argilla	1,49	8	3,9	0,90%	95,30%
	2,91	9	2,0	1,76%	97,06%
	2,94	10	0,98	1,78%	98,85%
	1,91	< 10	< 0,98	1,15%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiala	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	88,64%	6,66%	4,70%

**Note**  
14,72 g di materiale organogeno (conchiglie)



Classificazione	
Shepard	SA BBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classato
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	estremamente leptocurtica





## Stazione B2 (120 m NE)

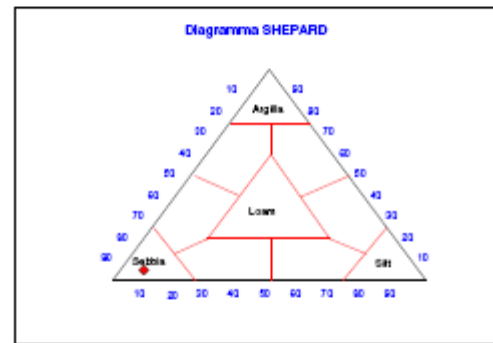
Parametri Fisici		
Peso secco (g)	P <sub>s</sub>	160,87
Peso umido (g)	P <sub>u</sub>	217,15
Peso specifico	G	n.d.
Peso divolume (g/cm <sup>3</sup> )	γ	n.d.
Peso divol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	γ <sub>s</sub>	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

Parametri Statistici		Percentile		
Media	M <sub>v</sub>	2,85	5°	1,78
Classazione	σ <sub>v</sub>	0,80	15°	2,15
Asimmetria	S <sub>sk</sub>	0,18	25°	2,28
Appuntimento	K <sub>d</sub>	2,96	50°	2,65
Mediana	M <sub>d</sub>	2,65	75°	3,13
			84°	3,75
			95°	7,91

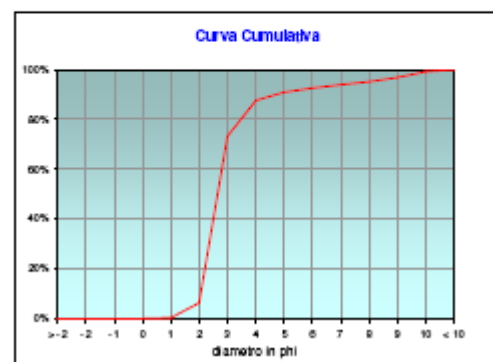
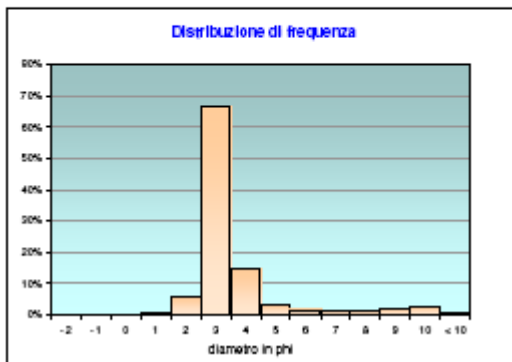
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiata	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,55	1	500	0,34%	0,34%
	9,56	2	250	5,95%	6,29%
	107,60	3	125	66,89%	73,17%
Limo	23,25	4	62,5	14,45%	87,62%
	5,38	5	31	3,34%	90,97%
	2,53	6	15,6	1,57%	92,54%
	2,18	7	7,8	1,36%	93,90%
Argilla	1,95	8	3,9	1,21%	95,11%
	2,72	9	2,0	1,69%	96,80%
	3,77	10	0,98	2,34%	99,14%
	1,38	< 10	< 0,38	0,86%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiaia	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	87,52%	7,49%	4,89%

Note
17,15 g di materiale organogeno (conchiglie)



Classificazione	
Shepard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classato
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	molto leptocurtica



## Stazione B3 (60 m NE)

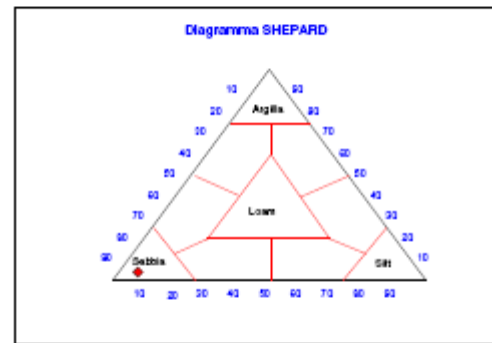
Parametri Fisici		
Peso secco (g)	P <sub>s</sub>	125,22
Peso umido (g)	P <sub>u</sub>	174,83
Peso specifico	G	n.d.
Peso divolume (g/cm <sup>3</sup> )	γ	n.d.
Peso divol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	γ <sub>s</sub>	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

Parametri Statistici		Percentile		
Media	M <sub>0</sub>	2,77	5°	1,75
Classazione	c <sub>u</sub>	0,71	16°	2,14
Asimmetria	S <sub>ka</sub>	0,16	25°	2,26
Appuntimento	K <sub>G</sub>	2,97	50°	2,62
Mediana	M <sub>d</sub>	2,62	75°	2,98
			84°	3,56
			95°	5,94

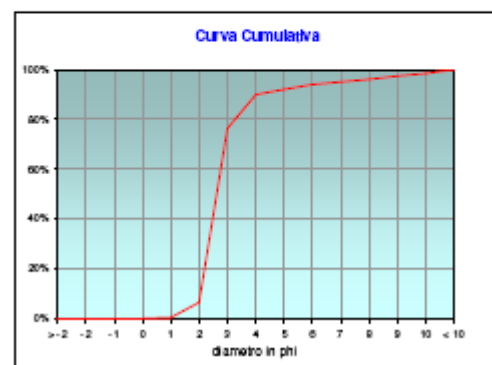
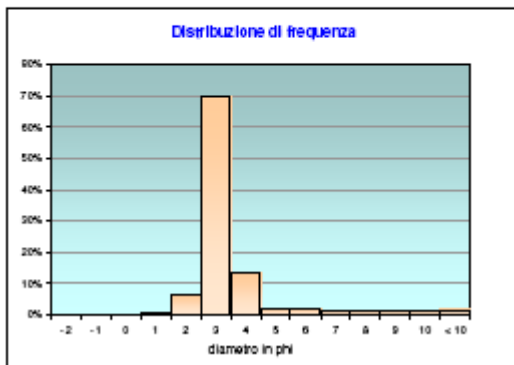
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiaia	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,55	1	500	0,44%	0,44%
	7,64	2	250	6,10%	6,54%
	87,46	3	125	69,84%	76,38%
Limo	17,05	4	62,5	13,62%	90,00%
	2,59	5	31	2,02%	92,02%
	2,44	6	15,6	1,95%	93,97%
	1,37	7	7,8	1,10%	95,07%
Argilla	1,23	8	3,9	0,98%	96,05%
	1,71	9	2,0	1,36%	97,42%
	1,28	10	0,98	1,02%	98,44%
	1,96	< 10	< 0,98	1,56%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiaia	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	90,00%	6,05%	3,95%

**Note**  
28,53 g di materiale organogeno (conchiglie)



Classificazione	
Shepard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classificata
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	molto leptocurtica



## Stazione B4 (30 m NE)

Parametri Fisici		
Peso secco (g)	P <sub>s</sub>	107,39
Peso umido (g)	P <sub>u</sub>	151,23
Peso specifico	G	n.d.
Peso divolume (g/cm <sup>3</sup> )	γ	n.d.
Peso divol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	γ <sub>s</sub>	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

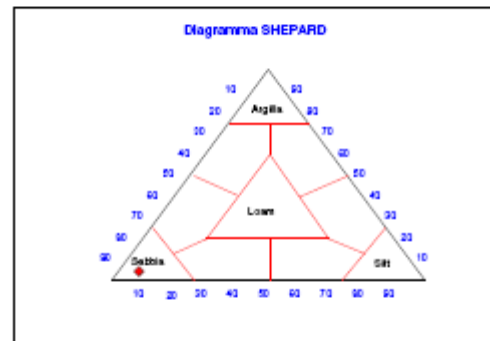
Parametri Statistici		
Media	M <sub>w</sub>	2,59
Classazione	c <sub>w</sub>	0,47
Asimmetria	S <sub>w</sub>	0,09
Appuntimento	K <sub>g</sub>	3,53
Mediana	M <sub>d</sub>	2,56

Percentile		φ
5°		1,76
16°		2,12
25°		2,24
50°		2,56
75°		2,89
84°		3,07
95°		7,34

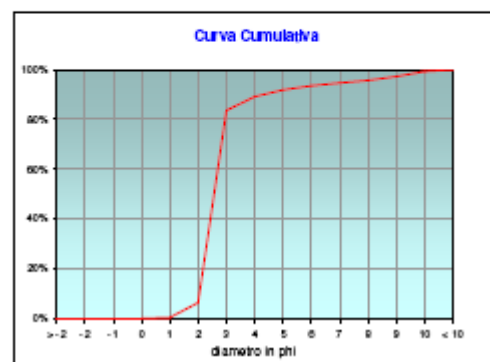
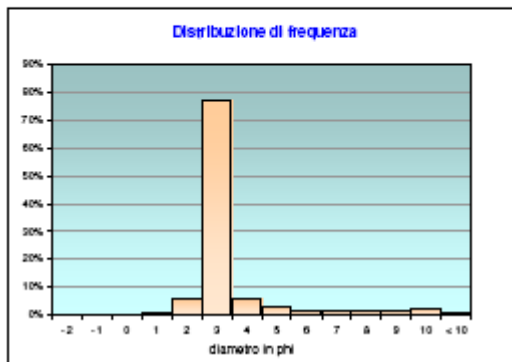
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiala	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,44	1	500	0,41%	0,41%
	6,44	2	250	6,00%	6,42%
	82,67	3	125	77,21%	83,83%
	5,91	4	62,5	5,51%	89,14%
Limo	2,96	5	31	2,76%	91,90%
	1,67	6	15,6	1,55%	93,45%
	1,28	7	7,8	1,19%	94,64%
	1,14	8	3,9	1,07%	95,71%
Argilla	1,59	9	2,0	1,48%	97,19%
	2,21	10	0,98	2,05%	99,25%
	0,81	< 10	< 0,38	0,75%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiaia	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	89,14%	6,57%	4,29%

Note	
28,36 g di materiale organogeno (conchiglie)	



Classificazione	
Shapard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	ben classato
Asimmetria	simmetrica
Appuntimento	estremamente leptocurtica



## Stazione B5 (30 m SW)

Parametri Fisici		
Peso secco (g)	Ps	174,68
Peso umido (g)	Pu	233,14
Peso specifico	G	n.d.
Peso di volume (g/cm <sup>3</sup> )	$\gamma$	n.d.
Peso di vol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	$\gamma_s$	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

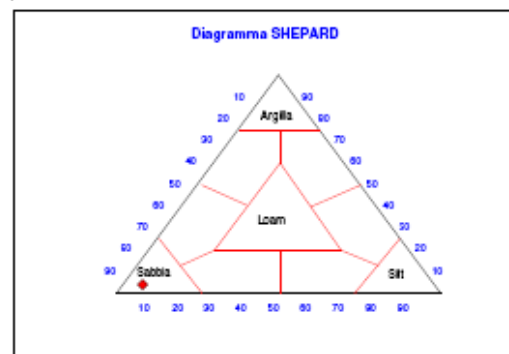
Parametri Statistici		
Media	$M_e$	2,57
Classazione	$c_u$	0,47
Asimmetria	$S_{sk}$	0,09
Appuntimento	$K_G$	3,30
Mediana	$M_d$	2,56

Percentile	$\phi$
5°	1,63
16°	2,11
25°	2,23
50°	2,56
75°	2,99
84°	3,05
95°	6,93

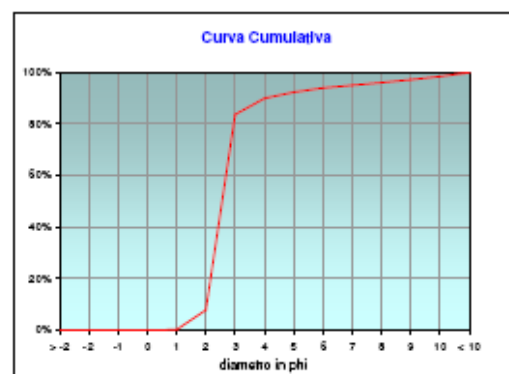
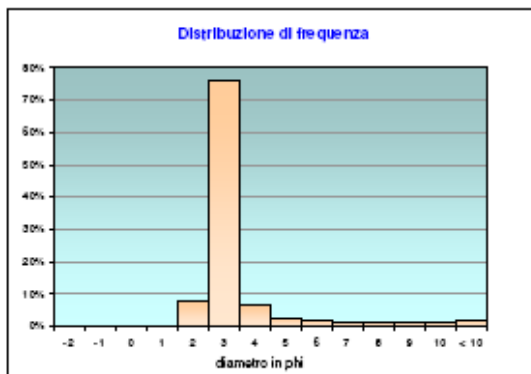
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiala	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,41	1	500	0,24%	0,24%
	13,25	2	250	7,59%	7,82%
	132,47	3	125	75,84%	83,66%
Limo	11,09	4	62,5	6,35%	90,01%
	4,06	5	31	2,33%	92,34%
	2,90	6	15,6	1,66%	94,00%
Argilla	1,88	7	7,8	1,08%	95,07%
	1,71	8	3,9	0,98%	96,05%
	1,94	9	2,0	1,11%	97,16%
	2,23	10	0,98	1,28%	98,44%
	2,73	< 10	< 0,98	1,56%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiala	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	90,01%	6,04%	3,95%

**Note**  
17,47 g di materiale organogeno (conchiglie)



Classificazione	
Shepard	SA BBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	ben classato
Asimmetria	simmetrica
Appuntimento	estremamente leptocurtica



## Stazione B6 (60 m SW)

Verbale di accettazione n°:	003	Certificato n°:	073	Data emissione:	28/07/2010	
COMMITTENTE:	CIBM - Livorno					
CANTIERE:	Piattaforma Tea					
CAMPIONE:	B6				Data analisi:	21/07/2010

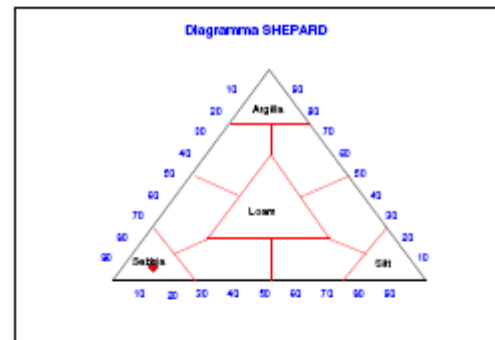
Parametri Fisici		
Peso secco (g)	P <sub>s</sub>	161,53
Peso umido (g)	P <sub>u</sub>	224,33
Peso specifico	G	n.d.
Peso divolume (g/cm <sup>3</sup> )	γ	n.d.
Peso divol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	γ <sub>s</sub>	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

Parametri Statistici		Percentile		
Media	M <sub>v</sub>	2,97	5°	1,91
Classazione	σ <sub>v</sub>	0,92	16°	2,17
Asimmetria	S <sub>sk</sub>	0,20	25°	2,32
Appuntimento	K <sub>cu</sub>	2,39	50°	2,73
Mediana	Md	2,73	75°	3,49
			84°	4,01
			95°	8,75

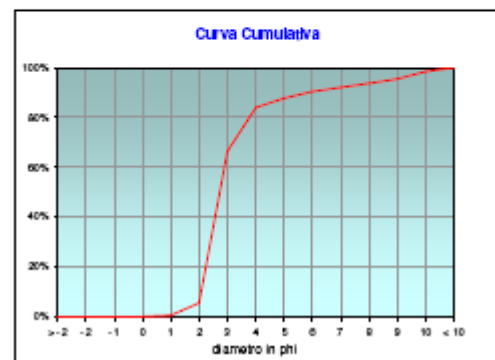
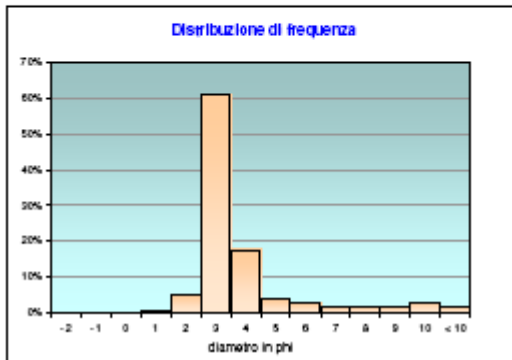
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiaia	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,79	1	500	0,49%	0,49%
	7,96	2	250	4,93%	5,42%
	98,96	3	125	60,89%	66,31%
Limo	28,54	4	62,5	17,67%	83,98%
	6,03	5	31	3,73%	87,71%
	4,34	6	15,6	2,69%	90,40%
	2,74	7	7,8	1,70%	92,10%
Argilla	2,54	8	3,9	1,57%	93,67%
	2,67	9	2,0	1,78%	95,45%
	4,91	10	0,98	3,04%	98,49%
	2,44	< 10	< 0,38	1,51%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiaia	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	83,38%	9,69%	6,33%

Note	
28,48 g di materiale organogeno (conchiglie)	



Classificazione	
Shepard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classato
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	molto leptocurtica



## Stazione B7 (120 m SW)

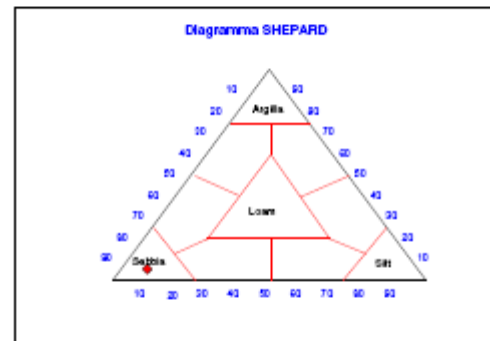
Parametri Fisici		
Peso secco (g)	P <sub>s</sub>	167,90
Peso umido (g)	P <sub>u</sub>	229,35
Peso specifico	G	n.d.
Peso divolume (g/cm <sup>3</sup> )	γ	n.d.
Peso divol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	γ <sub>s</sub>	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

Parametri Statistici		Percentile		
Media	M <sub>v</sub>	2,92	5°	2,01
Classazione	c <sub>v</sub>	0,85	15°	2,18
Asimmetria	S <sub>sk</sub>	0,19	25°	2,32
Appuntimento	K <sub>d</sub>	2,48	50°	2,70
Mediana	Md	2,70	75°	3,35
			84°	3,87
			95°	8,24

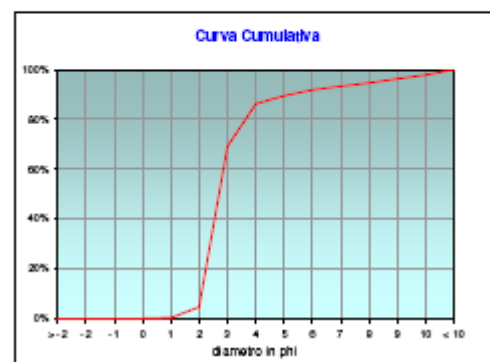
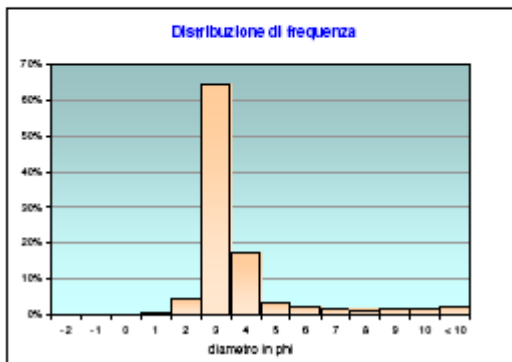
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiata	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,51	1	500	0,30%	0,30%
	7,29	2	250	4,37%	4,67%
	108,02	3	125	64,33%	69,01%
Limo	29,06	4	62,5	17,31%	86,31%
	5,35	5	31	3,19%	89,50%
	3,86	6	15,6	2,30%	91,80%
	2,44	7	7,8	1,45%	93,25%
Argilla	2,26	8	3,9	1,34%	94,59%
	2,85	9	2,0	1,70%	96,29%
	2,64	10	0,98	1,57%	97,86%
	3,59	< 10	< 0,38	2,14%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiaia	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	88,31%	8,28%	5,41%

**Note**  
15,04 g di materiale organogeno (conchiglie)



Classificazione	
Shepard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classato
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	molto leptocurtica



## Stazione B8 (250 m SW)

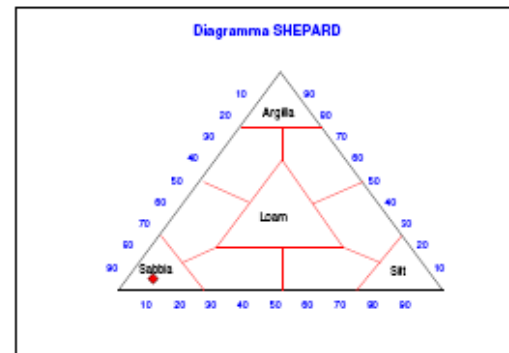
Parametri Fisici		
Peso secco (g)	Ps	175,94
Peso umido (g)	Pu	231,17
Peso specifico	G	n.d.
Peso di volume (g/cm <sup>3</sup> )	$\gamma$	n.d.
Peso di vol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	$\gamma_s$	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

Parametri Statistici			Percentile	
Media	$M_e$	2,91	5°	2,00
Classazione	$c_u$	0,84	16°	2,17
Asimmetria	$S_{sk}$	0,19	25°	2,31
Appuntimento	$K_G$	2,49	50°	2,70
Mediana	Md	2,70	75°	3,33
			84°	3,95
			95°	6,16

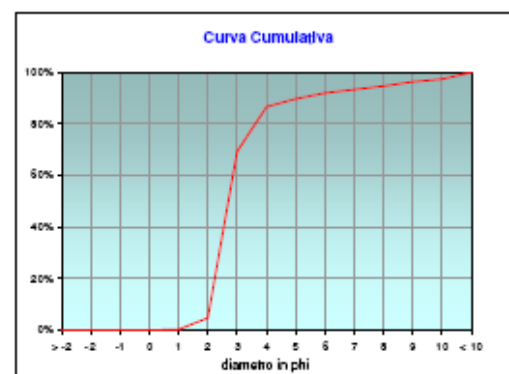
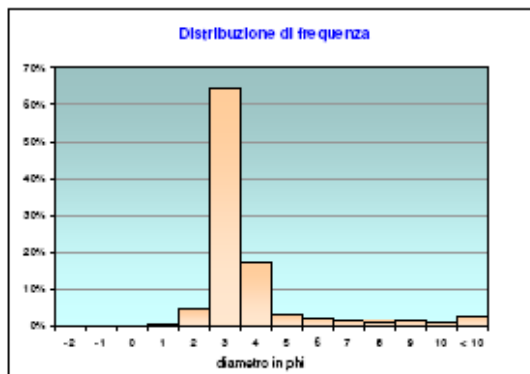
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiala	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,54	1	500	0,31%	0,31%
	7,90	2	250	4,49%	4,79%
	113,61	3	125	64,57%	69,37%
Limo	30,43	4	62,5	17,30%	86,66%
	5,46	5	31	3,11%	89,77%
	3,94	6	15,6	2,24%	92,01%
	2,49	7	7,8	1,41%	93,42%
Argilla	2,30	8	3,9	1,31%	94,73%
	2,91	9	2,0	1,65%	96,38%
	1,76	10	0,98	1,00%	97,38%
	4,60	< 10	< 0,98	2,62%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiala	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	96,66%	8,07%	5,27%

**Note**  
14,14 g di materiale organogeno (conchiglie)



Classificazione	
Shepard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classato
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	molto leptocurtica



## Stazione K1 (CONTROLLO NW)

Parametri Fisici		
Peso secco (g)	P <sub>s</sub>	157,89
Peso umido (g)	P <sub>u</sub>	216,05
Peso specifico	G	n.d.
Peso divolume (g/cm <sup>3</sup> )	γ	n.d.
Peso divol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	γ <sub>s</sub>	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

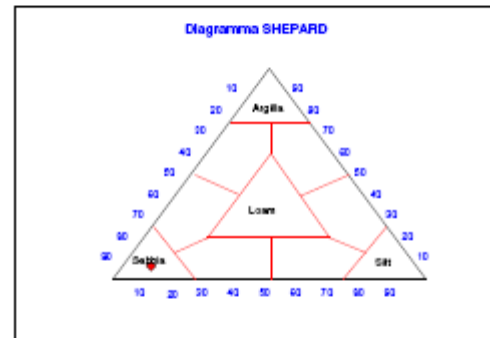
Parametri Statistici		
Media	M <sub>v</sub>	2,96
Classazione	σ <sub>v</sub>	0,90
Asimmetria	S <sub>v</sub>	0,18
Appuntimento	K <sub>G</sub>	2,34
Mediana	M <sub>d</sub>	2,75

Percentile	φ
5°	1,80
16°	2,17
25°	2,32
50°	2,75
75°	3,52
84°	3,97
95°	8,63

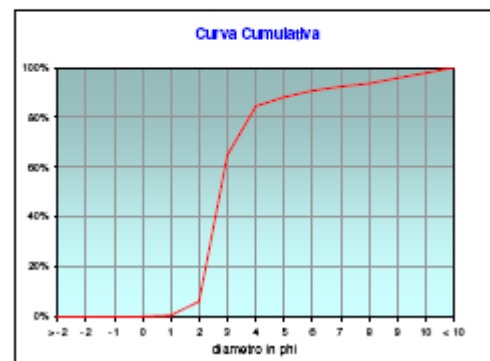
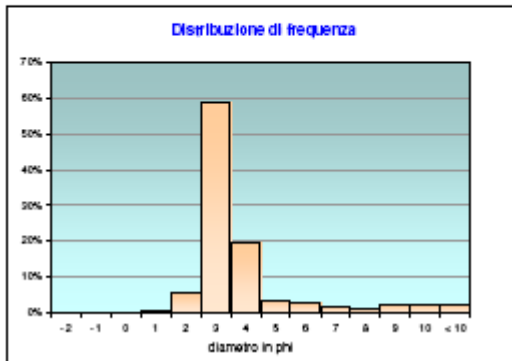
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiata	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,79	1	500	0,50%	0,50%
	8,83	2	250	5,59%	6,10%
	92,63	3	125	58,67%	64,76%
	31,23	4	62,5	19,78%	84,54%
Limo	5,68	5	31	3,60%	88,14%
	4,06	6	15,6	2,57%	90,71%
	2,63	7	7,8	1,67%	92,38%
	1,94	8	3,9	1,23%	93,60%
Argilla	3,49	9	2,0	2,21%	95,81%
	3,23	10	0,98	2,04%	97,85%
	3,39	< 10	< 0,39	2,15%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiaia	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	84,54%	9,08%	6,40%

**Note**  
23,86 g di materiale organogeno (conchiglie)



Classificazione	
Shepard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classato
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	molto leptocurtica





## Stazione K2 (CONTROLLO NE)

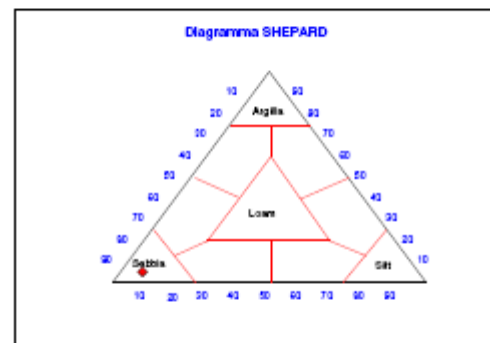
Parametri Fisici		
Peso secco (g)	P <sub>s</sub>	154,98
Peso umido (g)	P <sub>u</sub>	209,72
Peso specifico	G	n.d.
Peso divolume (g/cm <sup>3</sup> )	γ	n.d.
Peso divol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	γ <sub>s</sub>	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

Parametri Statistici			Percentile	
Media	M <sub>v</sub>	2,82	5°	1,73
Classazione	σ <sub>v</sub>	0,78	16°	2,14
Asimmetria	S <sub>v</sub>	0,18	25°	2,27
Appuntimento	K <sub>G</sub>	3,38	50°	2,64
Mediana	M <sub>d</sub>	2,64	75°	3,03
			84°	3,70
			95°	7,95

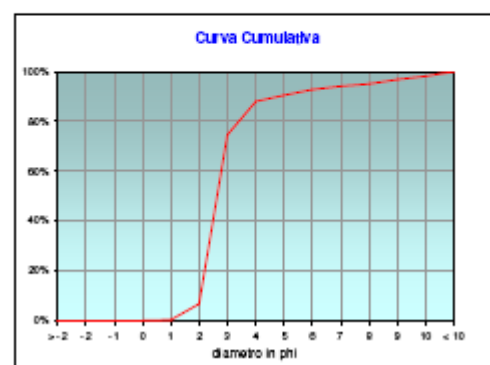
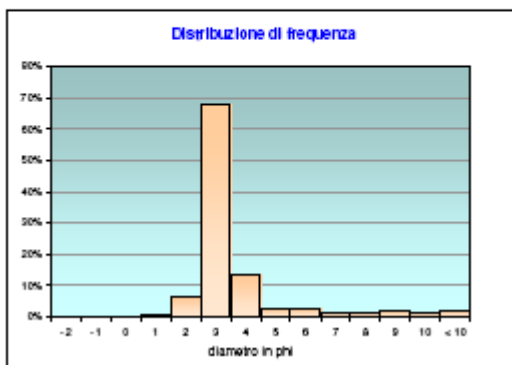
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiaia	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,49	1	500	0,32%	0,32%
	9,88	2	250	6,38%	6,69%
	105,27	3	125	67,93%	74,63%
	20,78	4	62,5	13,41%	88,04%
Limo	3,75	5	31	2,42%	90,45%
	3,65	6	15,6	2,36%	92,81%
	2,00	7	7,8	1,29%	94,10%
	1,47	8	3,9	0,95%	95,05%
Argilla	2,65	9	2,0	1,71%	96,76%
	2,13	10	0,98	1,37%	98,13%
	2,90	< 10	< 0,38	1,87%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiaia	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	88,04%	7,01%	4,95%

Note
17,72 g di materiale organogeno (conchiglie)



Classificazione	
Shepard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classato
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	estremamente leptocurtica



## Stazione K3 (CONTROLLO SW)

Parametri Fisici		
Peso secco (g)	Ps	172,49
Peso umido (g)	Pu	226,61
Peso specifico	G	n.d.
Peso di volume (g/cm <sup>3</sup> )	$\gamma$	n.d.
Peso di vol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	$\gamma_s$	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

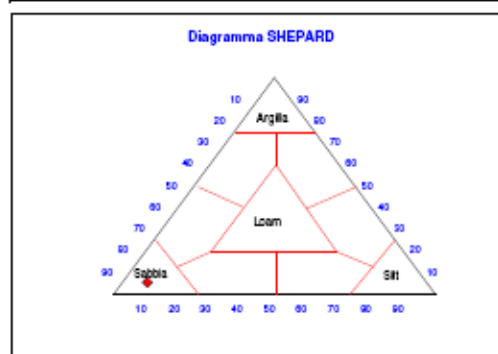
Parametri Statistici		
Media	$M_e$	2,83
Classazione	$C_u$	0,79
Asimmetria	$S_{sk}$	0,20
Appuntimento	$K_G$	3,74
Mediana	$M_d$	2,62

Percentile	$\phi$
5°	1,89
16°	2,15
25°	2,27
50°	2,62
75°	2,97
84°	3,72
95°	6,27

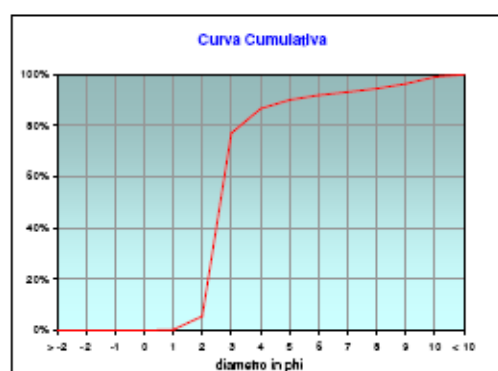
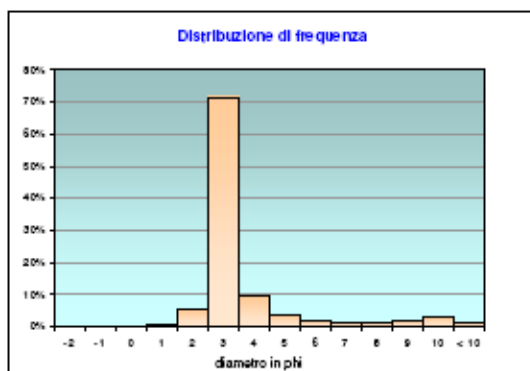
	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiala	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,65	1	500	0,32%	0,32%
	9,11	2	250	5,28%	5,60%
	123,31	3	125	71,49%	77,08%
Limo	16,59	4	62,5	9,61%	86,70%
	5,83	5	31	3,38%	90,08%
	3,28	6	15,6	1,90%	91,98%
	2,01	7	7,8	1,17%	93,15%
Argilla	2,32	8	3,9	1,35%	94,49%
	3,28	9	2,0	1,90%	96,39%
	4,63	10	0,98	2,68%	99,08%
	1,59	< 10	< 0,98	0,92%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiala	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	86,70%	7,80%	5,51%

**Note**  
16,7 g di materiale organogeno (conchiglie)



Classificazione	
Shepard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classato
Asimmetria	asimmetria positiva
Appuntimento	estremamente leptocurtica



## Stazione K4 (CONTROLLO SE)

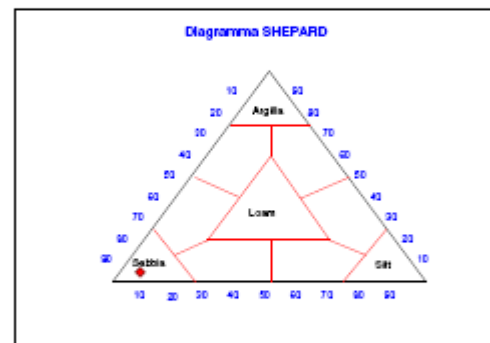
Parametri Fisici		
Peso secco (g)	P <sub>s</sub>	154,00
Peso umido (g)	P <sub>u</sub>	210,53
Peso specifico	G	n.d.
Peso divolume (g/cm <sup>3</sup> )	γ	n.d.
Peso divol. secco (g/cm <sup>3</sup> )	γ <sub>s</sub>	n.d.
Umidità (%)	W	n.d.

Parametri Statistici			Percentile	
Media	M <sub>v</sub>	2,77	5°	1,57
Classazione	c <sub>v</sub>	0,74	16°	2,11
Asimmetria	S <sub>sk</sub>	0,16	25°	2,24
Appuntimento	K <sub>G</sub>	3,39	50°	2,61
Mediana	M <sub>d</sub>	2,61	75°	2,97
			84°	3,59
			95°	7,61

	g	phi	micron	%	Freq. Cumul.
Ghiata	0,00	> -2	> 4000	0,00%	0,00%
	0,00	-2	4000	0,00%	0,00%
	0,00	-1	2000	0,00%	0,00%
Sabbia	0,00	0	1000	0,00%	0,00%
	0,71	1	500	0,46%	0,46%
	12,29	2	250	7,98%	8,44%
	105,35	3	125	68,41%	76,85%
Limo	18,65	4	62,5	12,11%	88,96%
	4,60	5	31	3,12%	92,08%
	1,95	6	15,6	1,27%	93,34%
	1,49	7	7,8	0,97%	94,31%
Argilla	1,72	8	3,9	1,12%	95,43%
	1,98	9	2,0	1,28%	96,72%
	2,97	10	0,98	1,93%	98,65%
	2,09	< 10	< 0,38	1,35%	100,00%

Classe granulometrica			
Ghiaia	Sabbia	Limo	Argilla
0,00%	88,96%	8,47%	4,57%

Note	
26 g di materiale organogeno (conchiglie)	



Classificazione	
Shepard	SABBIA
Wentworth	SA-FI
Classazione	moderatamente classato
Asimmetria	asimmetrica positiva
Appuntimento	estremamente leptocurtica

